



UNIVERSIDAD DE CASTILLA-LA MANCHA

Facultad de Ciencias Químicas  
Departamento de Química Analítica y Tecnología de Alimentos

**APTITUD DE TRES CRUCES GENÉTICOS DE CERDO  
BLANCO DE LA RAZA DUROC PARA LA  
FABRICACIÓN DE JAMÓN CURADO**

**M<sup>a</sup> ALMUDENA SORIANO PÉREZ**

TESIS DOCTORAL

Ciudad Real, 2001



**UNIVERSIDAD DE  
CASTILLA - LA MANCHA**

**Departamento de Química Analítica y Tecnología de Alimentos**

**Facultad de Ciencias Químicas**

**APTITUD DE TRES CRUCES GENÉTICOS  
DE CERDO BALNCO DE LA RAZA  
DUROC PARA LA FABRICACIÓN DE  
JAMÓN CURADO**

por

**M<sup>a</sup> Almudena Soriano Pérez**

Visado en Ciudad Real, 9 de abril de 2001

Fdo. Antonia García Ruiz Profesora  
Titular del Departamento de  
Química Analítica y Tecnología de  
los Alimentos de la Universidad de  
Castilla-La Mancha.

Trabajo presentado para optar al Grado de Doctor  
en Ciencia y Tecnología de los Alimentos

Fdo. Jpsé Rafael Quiles Zafra Director  
de los laboratorios de Calidad de  
Campofrío Alimentación S.A.

Fdo. M<sup>a</sup> Almudena Soriano Pérez  
Licenciada en Ciencia y Tecnología de los Alimentos



**UNIVERSIDAD DE  
CASTILLA - LA MANCHA**

**Departamento de Química Analítica y Tecnología de Alimentos**

**Facultad de Ciencias Químicas**

JOSÉ MARÍA LEMUS GALLEGO, Profesor Titular de Universidad y Secretario del Departamento de Química Analítica y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Castilla-La Mancha,

**CERTIFICA:**

Que el presente trabajo de investigación titulado "Aptitud de tres cruces genéticos de cerdo blanco de la raza Duroc para la fabricación de jamón curado" constituye la Tesis Doctoral que presenta Da. Almudena Soriano Pérez para aspirar al Grado de Doctor en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, y ha sido realizado en los laboratorios de este Departamento y en los del Departamento de Gestión de Calidad e I+D+I de Grupo Navidul S.A., bajo la dirección de los doctores Da. Antonia García Ruiz y D. José Rafael Quiles Zafra.

Y para que así conste, expido y firmo el presente certificado en Ciudad Real a nueve de abril de dos mil uno.

Fdo. María Dolores Cabezudo Ibáñez  
Directora del Departamento



Fdo. José María Lemus Gallego  
Secretario del Departamento

*A mi familia*

*A José Luis*



## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco su colaboración a la Dra. María Dolores Cabezudo Ibáñez, Directora del Departamento de Química Analítica y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Castilla-La Mancha, cuya organización ha hecho posible esta Memoria.

A la empresa Grupo Navidul S.A., por la concesión de una beca predoctoral que aportó la financiación y medios necesarios, y en especial a D. Julio Tapiador Farelo, director del Departamento de Gestión de Calidad e I+D+I, por incluirme en el equipo de investigación.

A mis directores de Tesis, la Dra. Antonia García Ruiz, Profesora titular de la Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica Agrícola de la Universidad de Castilla-La Mancha y el Dr. Rafael Quiles Zafra, Director de los Laboratorios de Control de Calidad de Navidul S.A., por brindarme su asesoramiento y saber científico.

Al personal del Departamento de Calidad de Grupo Navidul S.A. en Torrijos, que me ofrecieron su apoyo y ayuda en todo momento, y en especial al Dr. Juan Ángel García Garrido, por su compañerismo y constante preocupación.

A todos los integrantes del panel de cata, por su entusiasmo, motivación e interés. A los inspectores de calidad, D. Félix Gómez Pulido y D. Rafael Durán Díaz, por enseñarme atributos y defectos del jamón curado. A D<sup>a</sup> M. Carmen Sánchez Rivera por su puntualidad a las sesiones de cata y animarme durante 4 años.

Al Dr. Pedro Martín Álvarez, Investigador del Instituto de Fermentaciones Industriales (CSIC), por su asesoramiento en el tratamiento estadístico de los datos.

A los miembros del Área de Tecnología de los Alimentos, profesores, becarios, que me facilitaron información y medios para la redacción de este trabajo, y en especial a Da Cristina Mariscal Contreras.

Finalmente, a mi familia por su apoyo y a José Luis por su paciencia.

## ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>EL SECTOR CÁRNICO .....</b>	<b>1</b>
<b>CLASIFICACIÓN DE LAS CANALES.....</b>	<b>3</b>
<b>CALIDAD DE LA CANAL .....</b>	<b>5</b>
<b>CALIDAD DE LA CARNE.....</b>	<b>5</b>
Principales factores que definen la calidad de la carne y que influyen en el curado del jamón .....	7
Parámetros determinantes de la calidad de la carne y que influyen en el curado del jamón .....	11
Medida de la calidad de la carne .....	19
<b>TRAZABILIDAD .....</b>	<b>19</b>
<b>ELABORACIÓN DEL JAMÓN CURADO.....</b>	<b>23</b>
Tecnología del curado .....	24
Presentación comercial.....	33
Estabilidad microbiológica durante el curado .....	35
<b>PRINCIPALES CAMBIOS QUÍMICOS Y BIOQUÍMICOS DURANTE EL CURADO DEL JAMÓN .....</b>	<b>37</b>
Proteolisis .....	38
Lipolisis.....	51
Oxidación de los lípidos.....	53
Reacción de Maillard .....	55
Reacción de Strecker .....	56
Formación de nitrosomioglobina .....	57
<b>JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>69</b>
<b>OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO.....</b>	<b>73</b>
<b>CAPÍTULO 1: MATERIAL Y DESCRIPCIÓN DE LA METODOLOGÍA .....</b>	<b>75</b>
1.0 INTRODUCCIÓN .....	75
1.1 MUESTRAS .....	75

1.2 DETERMINACIONES FISICO-QUÍMICAS.....	81
1.2.1 pH y conductividad eléctrica .....	81
1.2.2 Determinación de la humedad.....	82
1.2.3 Determinación de la grasa.....	82
1.2.4 Determinación de la proteína.....	83
1.2.5 Análisis de la humedad, la grasa y la proteína mediante espectrofotometría de transmitancia en el infrarrojo cercano (NIT) .....	84
1.2.6 Determinación de los cloruros .....	87
1.2.7 Determinación de los nitritos .....	89
1.2.8 Determinación de los nitratos .....	90
1.3 DETERMINACIONES RELACIONADAS CON EL COLOR.....	91
1.3.1 Determinación de la mioglobina .....	91
1.3.2 Determinación de los hemopigmentos.....	93
• Nitrosopigmentos .....	93
• Pigmentos totales.....	94
1.4 DETERMINACIONES PARA EL SEGUIMIENTO DE LA PROTEOLISIS.....	95
1.4.1 Actividad enzimática de las catepsinas B+L .....	95
1.4.2 Determinación del nitrógeno no proteico .....	98
1.4.3 Electroforesis desnaturalizante en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) .....	99
1.5 MEDIDA INSTRUMENTAL DE LA TEXTURA .....	102
1.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	103
1.7 RESULTADOS .....	104
1.7.1 Caracterización de los cruces genéticos A, B y C.....	104
1.7.2 Calibración de los métodos NIT de análisis de la humedad, la grasa y la proteína .....	105
1.7.3 Recta de calibrado para el análisis de los nitritos .....	111
1.7.4 Recta de calibrado para el análisis de los nitratos.....	111
1.7.5 Recta de calibrado para el análisis de la mioglobina .....	111
1.7.6 Recta de calibrado para el análisis de la actividad enzimática de las catepsinas B+L .....	112
1.7.7 Recta de calibrado para el análisis de proteínas mediante el método de Biuret.....	112
1.7.8 Recta de calibrado para el cálculo del peso molecular correspondiente a las bandas electroforéticas obtenidas mediante SDS-PAGE.....	113
1.8 CONCLUSIONES .....	114

<b>CAPITULO 2: DETERMINACIONES FISICO-QUÍMICAS Y DE COLOR EN EL PERNIL FRESCO .....</b>	<b>115</b>
2.0 INTRODUCCIÓN .....	115
2.1 MATERIAL Y MÉTODOS .....	115
2.1.1 Muestras.....	115
2.1.2 Métodos.....	116
2.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	116
2.2.1 Escandallos .....	116
2.2.2 pH y conductividad eléctrica .....	117
2.2.3 Análisis de la humedad, la grasa y la proteína mediante espectrofotometría de transmitancia en el infrarrojo cercano (NIT) .....	119
2.2.4 Determinación de la mioglobina.....	121
2.3 CONCLUSIONES .....	122
 <b>CAPITULO 3: DETERMINACIONES FISICO-QUÍMICAS, DE COLOR Y DE TEXTURA EN EL JAMÓN CURADO .....</b>	 <b>123</b>
3.0 INTRODUCCIÓN .....	123
3.1 MATERIAL Y MÉTODOS .....	124
3.1.1 Muestras.....	124
3.1.2 Métodos.....	124
3.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	125
3.2.1 Análisis de los parámetros composicionales.....	125
3.2.2 Análisis de las sales.....	128
3.2.3 Análisis de los hemopigmentos.....	131
3.2.4 Medida instrumental de la textura .....	133
3.3 COMPARACIÓN ENTRE EL PERNIL FRESCO Y EL JAMÓN CURADO RESPECTO A LOS PARÁMETROS FISICO-QUÍMICOS Y A LA DETERMINACIÓN DEL COLOR .....	136
3.4 CONCLUSIONES .....	138
 <b>CAPÍTULO 4: PROTEOLISIS EN EL JAMÓN.....</b>	 <b>141</b>
4.0 INTRODUCCIÓN .....	141
4.1 MATERIAL Y MÉTODOS.....	141

4.1.1 Muestras .....	141
4.1.2 Métodos .....	142
4.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	143
4.2.1 Actividad enzimática de las catepsinas B+L en los pernils frescos .....	143
4.2.2 Electroforesis desnaturante en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) de las fracciones proteicas de los pernils frescos .....	145
a) Proteínas extraídas en tampón de baja fuerza iónica (sarcoplasmáticas) .....	145
b) Proteínas extraídas en tampón de elevada fuerza iónica (miofibrilares) .....	149
4.2.3 Actividad enzimática de las catepsinas B+L en los jamones curados .....	155
4.2.4 Nitrógeno no proteico en los jamones curados .....	156
4.2.5 Electroforesis desnaturante en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) de las fracciones proteicas de los jamones de 11 meses de curado .....	159
a) Proteínas extraídas en tampón de baja fuerza iónica (sarcoplasmáticas) .....	159
b) Proteínas extraídas en tampón de elevada fuerza iónica (miofibrilares) .....	164
4.3 COMPARACIÓN ENTRE EL PERNIL FRESCO Y EL JAMÓN CURADO RESPECTO A LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA Y A LA PROTEOLISIS .....	169
4.3.1 Actividad enzimática de las catepsinas B+L .....	169
4.3.2 SDS-PAGE de las proteínas .....	171
a) Fracción sarcoplasmática .....	171
b) Fracción miofibrilar .....	172
4.4 CONCLUSIONES .....	177
<b>CAPITULO 5: ANÁLISIS SENSORIAL .....</b>	<b>179</b>
5.0 INTRODUCCIÓN .....	179
5.0.1 Propiedades sensoriales del jamón curado .....	179
5.0.2 Medida de la calidad sensorial .....	189
5.1 SELECCIÓN, ENTRENAMIENTO Y CONTROL DE UN PANEL DE ANÁLISIS SENSORIAL EN LA EMPRESA .....	193
5.1.1 Reclutamiento .....	194
5.1.2 Selección .....	194
5.1.3 Entrenamiento .....	196

5.1.4 Control durante la etapa de entrenamiento .....	211
5.2 SALA DE CATA .....	212
5.3 MUESTRAS .....	212
5.4 PROCEDIMIENTO PARA REALIZAR LA CATA .....	213
5.5 PRECISIÓN DEL PANEL DE ANÁLISIS SENSORIAL .....	219
5.6 RESULTADOS DEL ANÁLISIS SENSORIAL CUANTITATIVO DESCRIPTIVO DE LOS JAMONES CURADOS PROCEDENTES DE LAS GENÉTICAS A, B Y C.....	219
5.6.1 Análisis de Componentes Principales de las variables sensoriales.....	222
5.6.2 Correlación entre los atributos sensoriales.....	224
5.6.3 Correlación entre las variables sensoriales y las variables químicas o instrumentales .....	225
5.7 CONCLUSIONES .....	228
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>229</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>231</b>

## **INTRODUCCIÓN**

### **EL SECTOR CÁRNICO**

Los datos publicados por la Asociación de Industrias Cárnicas de España (AICE, 2000) muestran que el sector cárnico en el año 1999, constituyó casi la cuarta parte (22%) de los 9,1 billones de pesetas que alcanzó el gasto alimentario en España. La carne de porcino representó más del 60% del total de carnes producidas en nuestro país (Tabla A), con un valor que superó los dos millones ochocientas mil toneladas. Estos valores colocaron a España en el quinto puesto como productor mundial de carne de porcino.

**Tabla A** Producción de carne (Tm) de las diferentes especies en España (AICE, 2000).

	<b>Porcino</b>	<b>Vacuno</b>	<b>Ovino</b>	<b>Caprino</b>	<b>Equino</b>	<b>Aves</b>
<b>1989</b>	1.703.490	459.258	204.083	17.512	6.585	842.600
<b>1990</b>	1.788.848	513.989	217.396	16.417	7.127	836.700
<b>1991</b>	1.885.557	506.785	211.531	15.364	5.411	881.700
<b>1992</b>	1.916.439	537.791	216.179	16.072	5.851	867.699
<b>1993</b>	2.088.821	488.003	224.143	16.429	7.256	831.620
<b>1994</b>	2.107.933	483.734	224.944	16.368	7.560	873.604
<b>1995</b>	2.174.823	508.492	227.126	14.932	6.988	920.100
<b>1996</b>	2.315.910	564.602	223.296	14.469	7.444	877.714
<b>1997</b>	2.401.136	592.186	229.151	16.047	8.320	901.568
<b>1998</b>	2.744.362	650.725	233.313	16.081	6.696	998.800
<b>1999</b>	2.892.255	677.573	221.327	17.463	6.279	1.001.550

En la Tabla B aparece el volumen de producción de los distintos tipos de elaborados cárnicos. El jamón y la paleta curados representaron el 21% de la producción total de 1999.

**Tabla B** Producción de los diferentes tipos de elaborados cárnicos (Tm) en España (AICE, 2000).

	<b>Jamón y paleta curados</b>	<b>Embutidos curados</b>	<b>Jamón y paleta cocidos</b>	<b>Otros tratados por el calor</b>	<b>Productos adobados y frescos</b>	<b>Platos prepara- dos</b>	<b>TOTAL</b>
<b>1992</b>	180.050	166.350	139.950	259.810	125.820	45.654	917.634
<b>1993</b>	181.500	163.120	137.700	260.300	126.230	44.610	913.460
<b>1994</b>	187.308	166.546	140.041	265.766	129.007	45.725	934.393
<b>1995</b>	183.955	162.715	132.198	252.743	129.652	46.045	907.308
<b>1996</b>	181.560	156.530	125.984	241.370	126.670	44.200	876.314
<b>1997</b>	182.337	156.687	125.606	242.094	127.113	44.377	880.251
<b>1998</b>	185.000	157.000	123.500	243.600	132.800	45.100	887.000
<b>1999</b>	193.880	157.000	126.588	254.562	139.838	46.047	917.915

En los últimos años, el comercio exterior de carnes y elaborados cárnicos ha experimentado un notable aumento (Tabla C), lo cual pone de manifiesto que la industria cárnica española es competitiva a nivel mundial y que posee un gran potencial exportador. La carne de porcino aumentó en un 64% el volumen de sus exportaciones y dentro de los derivados cárnicos, el jamón fue el que experimentó el mayor incremento (59%).



**Tabla C** Evolución de las importaciones y exportaciones de carne y elaborados cárnicos (Tm) desde 1995 hasta 1999 en España (AICE, 2000).

	EXPORTACIONES					IMPORTACIONES				
	1995	1996	1997	1998	1999	1995	1996	1997	1998	1999
<b>Carne de Vacuno</b>	63.198	76.390	115.100	117.200	139.323	86.860	64.152	66.300	68.306	72.983
<b>Carne de Porcino</b>	105.314	161.858	183.775	208.705	289.318	41.664	48.066	53.400	58.100	74.930
<b>Jamón Serrano</b>	5.720	6.640	9.315	10.795	14.000	1.855	770	515	750	960
<b>Embutidos curados</b>	6.250	8.871	11.850	10.146	11.600	1.130	1.172	905	975	925
<b>Jamón y paleta cocidos</b>	3.625	5.650	7.150	6.217	8.612	4.030	3.016	3.475	2.992	2.030
<b>Embutidos cocidos</b>	7.990	10.807	13.580	13.223	11.120	7.950	9.948	10.890	9.630	8.946
<b>Otros productos</b>	6.100	9.514	10.700	11.836	12.200	4.055	3.040	6.540	6.384	6.900

## CLASIFICACIÓN DE LAS CANALES

El aumento de la demanda por parte de los consumidores de carne y productos cárnicos con poca grasa, ha provocado la implantación del actual sistema de clasificación de canales en la Unión Europea, que emplea como criterio de pago la cantidad de magro de la canal.

La medida de la cantidad de magro se realiza por métodos objetivos aprobados, como las sondas ópticas: introscopio, sonda Ulster, FOM (Fat-o-Meater), HGP (Hennessy Grading Probe), DST (Destron PG-100), las sondas basadas en la conductividad eléctrica: KSA (Kod-Spaeck-Automatisk), o las sondas que utilizan ultrasonidos: ULTRAFOM y ULTRA-Meater. Se otorgan las

clases comerciales dentro de intervalos de 5% de magro según las letras: S (>60), E (60-55), U (55-50), R (50-45), O (40-45) y P (<40).

Los criadores de razas puras y las compañías de genética han aplicado programas de mejora para incrementar el rendimiento en magro de diversas razas, obteniendo resultados diferentes. En Holanda, Walstra y col. (1977) evaluaron la calidad de la canal en cinco razas, encontrando mejor calidad de canal en las razas Landrace Belga y Pietrain respecto a los Landrace Noruegos, Landrace Aleman y Yorkshire Alemán. En España, Oliver (1991) realizó un estudio sobre la composición de la canal de cinco razas puras provenientes de criadores nacionales y encontró una reducción del engrasamiento en las razas Pietrain y Landrace Belga (sensibles al estrés). En cambio, en las razas Large White y Duroc (resistentes al estrés) el espesor de la grasa fue significativamente mayor y el porcentaje de magro de las canales menor. La raza Landrace, considerada como intermedia, ha sido utilizada básicamente como componente del genotipo de la hembra.

Los resultados de diferentes estudios realizados sobre cruces de razas no han sido tan claros como los obtenidos con razas puras. Simpson y col. (1987) observaron que los cruces en los que se utilizaba la raza Duroc como macho terminal no diferían en cuanto a porcentaje de magro de los del cruce con macho terminal Large White. Sin embargo, en otras experiencias los cruces derivados de la raza Duroc han sido considerados más magros (Smith y col., 1988) o más grasos (Edwards y col., 1992). Oliver y col. (1994) compararon diferentes cruces genéticos que procedían de la selección de híbridos, obteniendo la mejor conformación los cruces con macho terminal Landrace Belga, no observándose diferencias significativas ni en el rendimiento ni en la longitud de la canal. En cuanto a la composición de la canal, la incorporación de la raza Duroc a la línea paterna no provocó un mayor engrasamiento ni un menor rendimiento en magro y lo mismo se observó cuando el híbrido Large White x Duroc se cruzó con un macho Landrace Belga. En cambio, el macho terminal Large White produjo canales más engrasadas cuando se utilizó en el cruce Large White x Duroc.

## **CALIDAD DE LA CANAL**

La calidad de la canal se valora en el matadero a partir de dos factores: la cantidad de carne y la calidad de la misma. El primero de ellos hace referencia al peso de las piezas de mayor valor, al porcentaje de magro y a la conformación. Además, se considera la homogeneidad de los animales.

Desde el punto de vista económico los caracteres de rendimiento (crecimiento, eficiencia del pienso, tamaño de camada, porcentaje de magro) se consideran más importantes porque condicionan la relación beneficio/coste para los productores. Algunos de estos caracteres están relacionados con la calidad cárnica de forma poco favorable. Por tanto, en el matadero se deberían evaluar conjuntamente la calidad de la canal y de la carne, para evitar que mejoras en la calidad de la canal ocasionen empeoramiento en la calidad de la carne.

## **CALIDAD DE LA CARNE**

De forma general, la calidad se define como la propiedad o conjunto de propiedades inherentes a una cosa que permiten apreciarla como igual, mejor o peor que las restantes de su misma especie. Una de las definiciones más extendidas de calidad fue propuesta por Hammond en 1955: “la calidad se define como aquello que gusta al consumidor y por lo que está dispuesto a pagar más que el precio medio”. Esta definición muestra cómo es el consumidor el que establece lo que es la calidad. Se trata por tanto de un criterio subjetivo, dependiente sobre todo de civilizaciones y culturas. La calidad de la carne es un concepto plural que no tiene una definición única, varía con el tiempo y difiere en función del segmento de la cadena cárnica que lo analice.

El consumidor no demanda únicamente una mejor calidad de la carne, sino también una calidad uniforme, para lo que es necesario reducir la variabilidad. En la Tabla D se enumeran los aspectos que contribuyen con distinta importancia a

la denominada “calidad cárnica”, en la que se incluyen distintas cualidades a su vez interrelacionadas, como son: la calidad higiénica, la nutricional, la organoléptica, la tecnológica, ética y la económica (López-Bote, 1992).

**Tabla D** Aspectos de la calidad de la carne.

<b>I. Calidad Higiénica</b>	<b>II. Calidad Organoléptica</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Higiene microbiológica: ausencia de microorganismos patógenos y alterantes (<i>Salmonella</i>, <i>Campylobacter</i>, etc)</li> <li>- Ausencia de residuos tóxicos: hormonas, medicamentos, antibióticos, metales pesados, nitrosaminas, etc</li> <li>- Ausencia de patologías: ausencia de parásitos</li> <li>- Valor de pH correcto</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Aspecto: color, cantidad de grasa visible (veteado), exudado</li> <li>- Olor y sabor</li> <li>- Textura (terneza)</li> <li>- Jugosidad</li> </ul>
<b>III. Calidad Nutricional</b>	<b>IV. Calidad Tecnológica</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Cantidad de grasa / cantidad proteínas</li> <li>- Valor biológico de proteínas</li> <li>- Concentración de aminoácidos esenciales</li> <li>- Composición en ácidos grasos</li> <li>- Contenido vitamínico</li> <li>- Minerales</li> <li>- Contenido en colesterol y grasas saturadas</li> </ul>	<p>Se refiere a parámetros determinantes para la conservación y transformación de la carne</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- pH</li> <li>- Capacidad de retención de agua</li> <li>- Consistencia de la grasa</li> <li>- Cantidad e insolubilización de colágeno</li> <li>- Estabilidad oxidativa</li> </ul>
<b>V. Calidad Ética</b>	<b>VI. Calidad Económica</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Bienestar animal</li> <li>- Medio ambiente</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Rendimientos en fresco y en productos transformados</li> </ul>

Para la carne fresca de porcino, atributos como la uniformidad e intensidad de color del magro, la cantidad de grasa, la terneza, la jugosidad y el sabor son vitales para la decisión y fidelización de la compra. Para la carne que va a ser procesada, influyen factores como el pH, la capacidad de retención de agua, la

estabilidad oxidativa y la ausencia de olores y sabores anómalos. La importancia de cada uno de ellos también dependerá de que la carne se destine a la elaboración de productos cocidos o curados.

### **Principales factores que definen la calidad de la carne y que influyen en el curado del jamón**

La calidad de la carne está afectada tanto por factores *ante mortem* como por factores *post mortem*.

#### **• Factores *ante mortem***

Los principales son: la genética, la edad, el sexo, el tipo de músculo y las condiciones de manejo y de sacrificio de los animales. Estas condiciones hacen referencia principalmente a la alimentación que reciben, al proceso de carga y descarga de los animales del camión que los conduce al matadero, a las condiciones del transporte, a la espera al sacrificio y a la forma de efectuarlo (Diestre, 1993).

#### Genética

La genética influye principalmente en los parámetros que condicionan la calidad tecnológica y organoléptica de la carne como el pH, la capacidad de retención de agua, la cantidad de grasa y la composición de la misma.

El contenido en grasa intramuscular viene determinado en gran parte por la genética (50% de heredabilidad, según Hovenier y col., 1993) y puede ser mejorado por selección. Se sabe que la presencia de ciertos genes (en un estado alélmórfico concreto) en los cromosomas 4, 7 y 13, pueden ser responsables de un mayor depósito de grasa (intramuscular y de depósito) en la canal. La raza Duroc puede alcanzar valores superiores al 3% de grasa intramuscular, siendo, junto con el cerdo ibérico, la única raza que logra valores tan elevados; lo que le confiere una mejora de las propiedades organolépticas de la carne. Antequera

(1990) señaló diferencias en la composición de ácidos grasos entre distintos cruces genéticos porcinos con idénticas condiciones de producción.

En algunos estudios se ha sugerido que la raza Duroc tiene un color más pálido (Cameron y col., 1990), en parte debido al mayor contenido en grasa intramuscular.

Oliver y col. (1994) realizaron un estudio para conocer la calidad de la carne y su aptitud para la fabricación del jamón curado utilizando diferentes machos (Duroc, Large White y Landrace Belga) y una misma línea genética femenina. Encontraron que el cruce Landrace Belga x (Landrace x Large White) obtuvo el pH a los 45 min más bajo y la menor capacidad de retención de agua, por tanto proporcionó el mayor porcentaje de canales PSE (pálidas, blandas y exudativas). Por otro lado, el cruce Duroc x (Landrace x Large White) se caracterizó por tener el mayor contenido de grasa intramuscular.

### Edad

La edad del animal está relacionada con la evolución del sabor, del olor, de la dureza y del color de la carne.

Al aumentar la edad del animal se producen cambios en la actividad metabólica y en la composición del músculo. Así, aumenta el contenido de pigmentos, se eleva la concentración de algunos aminoácidos (valina, metionina, leucina, isoleucina) y se modifica la composición cuantitativa y cualitativa de los lípidos (López-Bote, 1992).

### Sexo

El sexo influye en el olor y sabor de la carne, ya que condiciona el engrasamiento del animal y la composición de la grasa.

El aspecto específico y más característico del sexo es el desarrollo del denominado olor sexual, también conocido como olor a verraco (recuerda en cierto modo al olor a orina), el cual está vinculado a feromonas necesarias para la reproducción animal en estado salvaje. El principal compuesto responsable del olor sexual, identificado por Patterson (1968), es la 5- $\alpha$ -androst-16-en-3-ona (androstenona), que se sintetiza principalmente en los testículos y en menor cantidad en las glándulas adrenales, las cuales no se eliminan mediante la castración, por tanto, no se excluye totalmente la posibilidad de presentar olor sexual mediante esta práctica. También se han identificado otros compuestos esteroideos de características similares que presentan un olor desagradable, pero de menor intensidad. Otra familia de compuestos cuya relación con el olor sexual se ha investigado es la del indol-escatol. Poseen un pronunciado olor fecal y se han relacionado con el olor sexual (Lundström y col., 1980; Mortensen y col., 1986). Hanson y col. (1980) señalaron que el escatol (3-metil-indol) no es específico de la grasa de cerdos sin castrar, sino que también se encuentra en hembras y machos castrados y además, indica una probable acción sinérgica con la androstenona. Según estos autores, el escatol es un producto de la degradación del triptófano de la dieta mediante las bacterias intestinales y su concentración en la grasa y en el magro depende más de los factores del medio (alimentación, estado sanitario), que de los ligados al animal (tipo sexual y genético).

### Tipo de músculo

La localización anatómica de los músculos genera diferencias en la concentración de los compuestos responsables del olor y del sabor, ya que ocasiona variaciones en el contenido y composición de la grasa.

Antequera (1990) y Córdoba (1990) señalaron diferencias en cuanto al perfil de carbonilos y de proteolisis, respectivamente, en los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris* a lo largo del curado del jamón.

## Alimentación

La alimentación es un factor esencial que influye en el desarrollo de las características olfato-gustativas de la carne.

(García y col., 1991) encontraron relación entre la alimentación del cerdo y la aparición de lípidos no saponificables en el jamón ibérico, que influyeron en el aroma y sabor.

También existen numerosas sustancias liposolubles indeseables que pueden depositarse en la grasa de la canal proporcionando olores y sabores desagradables. Algunos investigadores sugieren que las dietas ricas en fibra incrementan la incidencia del olor a verraco, mientras que otros consideran un efecto beneficioso de la fibra para prevenir el desarrollo de este olor.

## Condiciones de manejo y sacrificio

Las condiciones de transporte, de manejo en el matadero y durante el sacrificio de los animales, influyen en la calidad higiénica, tecnológica y organoléptica de la carne. Estas condiciones ocasionan cambios en los niveles de metabolitos y hormonas como cortisol y tiroxina, afectando al ritmo cardíaco. También se puede desencadenar el cuadro del síndrome de estrés porcino que conduce inevitablemente a la muerte de los animales durante este periodo y a la aparición de carnes PSE, si bien, como ya se mencionó anteriormente, debe existir una predisposición genética.

Se han recomendado las siguientes condiciones de manejo en el matadero y durante el transporte para evitar la aparición de defectos en la calidad de la carne:

- No se deben mezclar cerdos de diferentes orígenes para evitar infecciones cruzadas de *Salmonella* y prevenir peleas entre los animales (especialmente cuando son verracos), que ocasionarían el agotamiento de las reservas de



glucógeno del músculo y, como consecuencia, la aparición de carnes más oscuras y secas, además de causar daños en la piel y restos de sangre.

- Los animales deben descansar unas horas antes de ser sacrificados para recuperarse del estrés producido por el transporte y someterse a un periodo de ayuno entre 8 y 14 horas, dependiendo de la raza, sistema de alojamiento, etc. Duchar a los animales durante el transporte repercute en su bienestar y comportamiento y hacerlo antes del sacrificio disminuye la temperatura muscular y puede mejorar la calidad de la carne. Para mover a los cerdos se deberían utilizar tablas especiales o palmadas suaves, con objeto de ocasionarles el menor estrés posible.

- El aturdimiento previo al sacrificio, ya sea mediante la aplicación de un voltaje eléctrico o con CO<sub>2</sub>, se debe efectuar correctamente.

#### • Factores *post mortem*

Existe una serie de factores *post mortem* que influyen en los parámetros determinantes de la calidad de la carne, entre los que destacan: la forma de efectuarse el escaldado, el oreo y enfriamiento de la canal (condiciona la instauración del *rigor mortis*), el despiece de la canal, la congelación (si se realiza), el transporte de las piezas, el mantenimiento de la cadena de frío hasta que la carne es adquirida por el consumidor.

#### **Parámetros determinantes de la calidad de la carne y que influyen en el curado del jamón**

Destacan el pH, el color, la capacidad de retención de agua, la cantidad de grasa intramuscular y las características del tejido adiposo.

## pH

El pH del músculo de un animal vivo está próximo al pH neutro, sin embargo, después del sacrificio la sangre no puede transportar oxígeno hasta los tejidos y el metabolismo muscular trabaja en condiciones de anaerobiosis para regenerar ATP a partir del glucógeno. Por tanto, se acumula ácido láctico con la consiguiente disminución del pH.

A medida que los niveles energéticos del músculo se van agotando y la cantidad de ATP se aproxima a cero, la bomba de calcio (ATP-dependiente) se detiene y se produce una contracción muscular irreversible que da lugar a la denominada rigidez cadavérica o *rigor mortis*, alcanzándose al mismo tiempo un valor de pH próximo a 5,5.

El pH final de la carne condiciona varios factores de calidad de la misma y varía dependiendo de las reservas de glucógeno del músculo y de las condiciones en que desciende su valor.

El valor final del pH influye en la conservación de la carne. Así, un valor próximo al pH neutro facilita el crecimiento de la microbiota contaminante, por lo que interesa que los valores del pH final sean inferiores.

Por otra parte, dado que el punto isoelectrico de las proteínas miofibrilares es aproximadamente 5,5, el hecho de que el pH esté próximo a ese valor hace que las fuerzas de repulsión entre distintas miofibrillas sean mínimas, por lo que el espacio existente entre ellas es pequeño. Cuando el pH alcanza un valor superior al punto isoelectrico hay predominio de cargas negativas en las proteínas miofibrilares, por lo que existe repulsión eléctrica entre ellas y, como consecuencia, un grado de hinchamiento mayor. Dado que una fracción importante del agua de la carne está retenida por capilaridad, el hecho de que exista mayor o menor grado de hinchamiento repercute directamente en la capacidad de retención de agua, por lo que las carnes con pH elevado exudan menos agua, tienen una apariencia más consistente y coloraciones más oscuras,

entre otros motivos porque reflejan menos proporción de la luz que incide sobre ellas (Offer y Trinick, 1983). Este tipo de carne se denomina carne de corte oscuro o DFD (del inglés Dark=oscuro, Firm=firme y Dry=seco), presentan un  $\text{pH} > 6,2$  a las 24 h *post mortem* (Zert y Polack, 1982). Este problema en la calidad de la carne magra se produce por agotamiento de las reservas de glucógeno antes del sacrificio, generalmente por estrés prolongado. Se suele presentar asociado al transporte de ganado en malas condiciones y sin que ocurra la reconstitución deseable de los niveles de glucógeno muscular antes del sacrificio.

También es muy importante la velocidad de descenso del pH después del sacrificio. Depende de la temperatura del músculo (la aplicación de frío provoca una disminución en la velocidad de la actividad enzimática), y de su localización. Así, si el músculo es superficial, la difusión de oxígeno permite que continúe el metabolismo aerobio. En general, el metabolismo anaerobio es mayor cuanto más elevada es la proporción de fibras blancas en el músculo, lo cual depende de la especie, la raza y el tipo de músculo. Por término medio, en el ganado porcino, el pH final se alcanza entre las 4 y 8 horas después del sacrificio, en ganado ovino entre 12 y 24 h, y en bovino entre 24 y 48 h. La disminución del pH puede suceder bruscamente y en pocos minutos (45, 30 e incluso menos). Durante este corto periodo de tiempo, la canal no puede refrigerarse y coincide un pH ácido con temperaturas elevadas, lo cual ocasiona una desnaturalización parcial de las proteínas musculares, fundamentalmente de la fracción sarcoplasmática. La principal consecuencia de este fenómeno es la disminución de la capacidad de retención de agua, que está influida además de por el valor del pH final de la carne, por la solubilidad y estado de las proteínas. La carne resulta pálida, blanda y exudativa, denominándose carne PSE (del inglés Pale=pálido, Soft=blando y Exudative=exudativo) y presenta un pH inferior a 5,8 (Kallweit, 1981) o 6 (Froystein, 1981) a los 45 min *post mortem*. Este problema es consecuencia directa de situaciones de estrés en momentos inmediatamente anteriores al sacrificio. Existe una predisposición genética al estrés, aunque, al igual que en el caso de las carnes DFD, la tecnología de sacrificio es la principal determinante. El cerdo es la especie más propensa a producir carnes PSE debido a su fisiología y a la mejora genética intensa a que ha sido sometido.

El método más utilizado para predecir la susceptibilidad al estrés “in vivo” es la prueba del halotano, la cual se basa en la relación que existe entre la sensibilidad a este gas anestésico fluorado (bromoclorotrifluoroetano) con la predisposición a presentar carnes PSE. Los cerdos susceptibles al estrés, cuando son expuestos al halotano, presentan síntomas similares a los de la hipertermia maligna (elevación de la temperatura corporal, sudación, aumento del ritmo cardíaco, rigidez muscular y, finalmente, la muerte). La reacción al halotano está determinada por un gen recesivo denominado gen del halotano, siendo el resistente (o halotano negativo) el dominante; lo que corrobora el requisito de la predisposición genética para que se desarrolle el problema de las carnes PSE.

Las razas más afectadas por la condición PSE son aquellas que proporcionan animales conformados, es decir, que desarrollan gran cantidad de magro y mayor proporción de jamón en la canal. Así, se ha encontrado el 100% de los animales de la raza Pietrain sensibles al halotano y también algunos tipos de la raza Landrace, entre los que destaca el belga (88%) y el alemán (70%). En el caso del Landrace danés y del Hampshire la incidencia es menor (7 y 2%, respectivamente), y en las razas Large White y Duroc el 100% de los animales son negativos a la prueba del halotano (Sayre y col., 1963).

El valor del pH final y la velocidad de disminución del mismo, además de afectar a la apariencia externa (y por tanto a la aceptabilidad para el consumo en fresco) y a la facilidad de proliferación de microorganismos, también influye en la capacidad de la carne para ser transformada puesto que debe cumplir unos determinados requisitos en cuanto a pH según el tipo de procesado a que vaya a someterse.

Las piezas enteras PSE, tales como jamones y lomos, exudan un volumen excesivo de agua en las pilas de salazón y por tanto solubilizan más cantidad de sal, por lo que para un mismo tiempo de estancia en salazón adquieren un sabor más salado. La deshidratación posterior provoca carnes excesivamente secas y fibrosas. La desnaturalización que sufren las proteínas durante la instauración del *rigor mortis* debido al bajo pH y la elevada temperatura favorece una proteólisis

acentuada durante el proceso de elaboración, lo que propicia la aparición de precipitados de tirosina (pintas blancas).

Las piezas enteras DFD normalmente no se destinan al curado, ya que la penetración de la sal desde el exterior es deficiente, debido a que previamente debe disolverse en el agua de exudado de la propia pieza. Además, el pH excesivamente elevado facilita la proliferación microbiana y la actividad enzimática interior, lo cual puede desencadenar una putrefacción profunda (hueso hediondo). Este tipo de carnes puede destinarse a la elaboración de embutidos crudos fermentados, que resultarán de calidad mediocre.

### Color

El color es una de las características más importantes de la carne, ya que es el principal atributo que juzga el consumidor antes de comprar, prefiere la carne fresca de color rojo brillante y los productos cárnicos curados de color rosa.

La intensidad del color de la carne fresca refleja la cantidad de mioglobina, su estado químico y el estado físico de la carne. Depende del pH final y de su velocidad de descenso, así como de la estructura de las proteínas (Lawrie, 1998).

La cantidad de mioglobina depende de factores como la especie, la raza, la edad (el contenido aumenta con la edad), el ejercicio (ayuda a incrementar el contenido), el tipo de músculo (los rojos y con metabolismo aeróbico tienen más contenido que los blancos y con metabolismo anaeróbico), la alimentación (el reemplazo de la cebada por trigo en los piensos conduce a una disminución de los niveles de pigmentos), etc.

El pH de la carne influye en el color, ya que determina la exudación de agua y la tendencia a reflejar la luz incidente. Las carnes de pH elevado (DFD) exudan poca cantidad de agua y, por tanto, reflejan una pequeña cantidad de luz, apareciendo de color oscuro. Además, a valores elevados de pH, las mitocondrias continúan activas y consumen oxígeno, por lo que no se forma la

oximioglobina de color “rojo vivo”. Las carnes en las que disminuye bruscamente el pH (PSE), exudan una cantidad considerable de agua; por tanto, reflejan mayor cantidad de luz y, en consecuencia, aparecen con colores más claros. Además, cuando después del sacrificio, simultáneamente coinciden valores de pH bajos y temperaturas elevadas, se puede desnaturalizar una fracción de la mioglobina, lo que contribuye a la aparición del color más claro.

#### Capacidad de retención de agua (CRA)

La carne posee un contenido muy elevado de agua, aproximadamente un 75%, que se mantiene retenida o ligada al tejido muscular. El agua se comporta como un dipolo, una fracción considerable (aproximadamente el 10% del peso total de la carne) puede ser atraída eléctricamente por los grupos cargados de las proteínas, estableciéndose diversas capas de hidratación alrededor de las éstas con una fuerza de atracción progresivamente inferior. Las interacciones electrostáticas de mayor importancia son los puentes de hidrógeno y las interacciones hidrofóbicas. El resto del agua permanece retenida a la masa muscular mediante fuerzas físicas, fundamentalmente fuerzas de capilaridad (Offer y Trinick, 1983).

La hidratación de cada proteína depende fundamentalmente de su composición, siendo, de forma aproximada, el resultado de la suma de la hidratación de sus aminoácidos. La miosina y la tropomiosina se caracterizan por un alto contenido en aminoácidos ácidos y básicos, que les confieren una carga neta elevada.

El agua se encuentra ligada principalmente a la estructura tridimensional de las miofibrillas, que poseen un punto isoeléctrico próximo a 5,5 (el punto isoeléctrico de las proteínas miofibrilares mayoritarias, actina y miosina, es 4,7 y 5,4, respectivamente), que indica el pH al que la carga neta de las moléculas proteicas es mínima. El hecho de que el pH de la carne esté próximo a ese valor hace que las fuerzas de repulsión entre las distintas miofibrillas sea mínima, por

lo que el espacio existente entre ellas es muy reducido. Por encima y por debajo de este valor, los miofilamentos exhiben carga creciente y se repelen mutuamente resultando un hinchamiento mayor. Dado que una fracción importante del agua de la carne está retenida mediante fuerzas de capilaridad, el hecho de que exista mayor o menor grado de hinchamiento repercute en la capacidad de retención de agua, por lo que las carnes con pH elevado o excesivamente bajo exudan menos agua. El aumento de volumen se halla limitado por la relativa rigidez de las líneas Z y M, las fibras del tejido conectivo y las membranas que rodean a la fibra muscular (Hofmann, 1977). Otro factor limitante del hinchamiento son los puentes que se establecen entre los filamentos de actina y miosina durante el *rigor mortis*.

El contenido en agua del tejido conjuntivo de la carne depende de factores como su composición y la edad al sacrificio del animal y supone entre un 60-85% del agua no retenida por las fibras musculares. La CRA de las proteínas miofibrilares y el tejido conjuntivo es similar, si bien en este último se mantiene constante entre valores de pH 5,6 y 7,0. A un pH más bajo se hincha, adquiriendo una CRA considerable, probablemente debido a la disminución de puentes de hidrógeno intramoleculares en las moléculas de tropocolágeno (Hamm, 1960).

Por otro lado, en la canal existen músculos con diferencias en cuanto al pH, grado de contracción y tipo de fibra, por lo que son de esperar variaciones en la CRA de los diferentes músculos, siendo las variaciones de pH las más importantes. La razón bioquímica de estas variaciones de pH se basa en la composición de la fibra muscular. Así, en vacuno, la alta correlación entre CRA y pH de 8 músculos distintos se ha asociado con el predominio de las fibras rojas que tiende a favorecer pH altos y, consecuentemente, una alta CRA (Swift y Berman, 1959). Esta observación también es aplicable a la carne de cerdo, donde, además, las fibras rojas tienen longitudes de sarcómero mayores. Las diferencias en la CRA entre distintos músculos son más acusadas cuando el cerdo es sensible al estrés, ocurriendo una rápida caída del pH predominantemente en músculos blancos o intermedios (Monin y col., 1981).

La variación en la CRA de la carne en la canal se ve afectada por la velocidad de enfriamiento tras el sacrificio y la posición de los músculos en relación a la superficie de la misma. El pH de los músculos profundos disminuye más rápidamente que el de los superficiales, alcanzando valores inferiores a 6 mientras la temperatura todavía está por encima de 30 °C. El resultado es la desnaturalización de las proteínas sarcoplasmáticas y miofibrilares, aunque menos severa que la que se observa en cerdos con incidencia PSE (Marsh y col., 1981).

La capacidad de retención del agua condiciona la percepción del color, sensación de jugosidad y dureza, y ejerce una clara influencia sobre procesos como la deshidratación y la difusión de la sal en el interior de las piezas cárnicas enteras.

#### Cantidad de grasa intramuscular

El contenido en grasa intramuscular posee una influencia positiva en la calidad de la carne (terneza, jugosidad, olor, sabor). Se ha señalado que está más relacionada con la jugosidad que con la capacidad de retención de agua, debido a que ejerce un efecto estimulante sobre la secreción salivar.

En carne de porcino se ha propuesto un porcentaje de grasa óptimo entre 2,5 y 3% (De Vol y col., 1988). Por encima de este valor, la grasa ya es visible, por lo que fue puntuada negativamente por un panel de cata. Bejerholm y Barton-Gade (1986) concluyeron que es necesario al menos un 2% de grasa intramuscular para que la calidad sensorial de la carne sea adecuada. Este nivel de grasa sólo se alcanza al utilizar animales con sangre Duroc o cerdos ibéricos. Se debe evitar que la cantidad de grasa sea insuficiente. Un porcentaje de grasa menor del 1,5% ocasiona una carne más seca y carente de aroma. Para la producción de carne fresca y jamón curado es importante un mínimo de grasa intramuscular para asegurar una buena calidad gustativa (Oliver y col., 1993).



### Composición del tejido adiposo

La composición química del tejido adiposo, tanto intramuscular como intermuscular y subcutáneo, influye en el desarrollo de las características organolépticas y en las aptitudes de conservación y transformación de la carne. La composición en ácidos grasos varía según la localización anatómica, la especie, la raza, el sexo, la alimentación, las condiciones de la cría de los animales, etc.

### **Medida de la calidad de la carne**

El concepto de calidad de carne es mutable y no se ajusta a criterios uniformes, lo cual dificulta su medición. Además, existe dependencia entre algunos de los criterios de calidad, por lo que una sola medida no es suficiente. En muchos casos ni siquiera está claro el factor que debe considerarse para determinar un criterio de calidad, incluso en ocasiones es necesaria una tecnología tan compleja que no es asequible o ni siquiera se ha desarrollado. En la Tabla E aparece una clasificación de métodos analíticos e instrumentales utilizados en la medida de los factores de calidad.

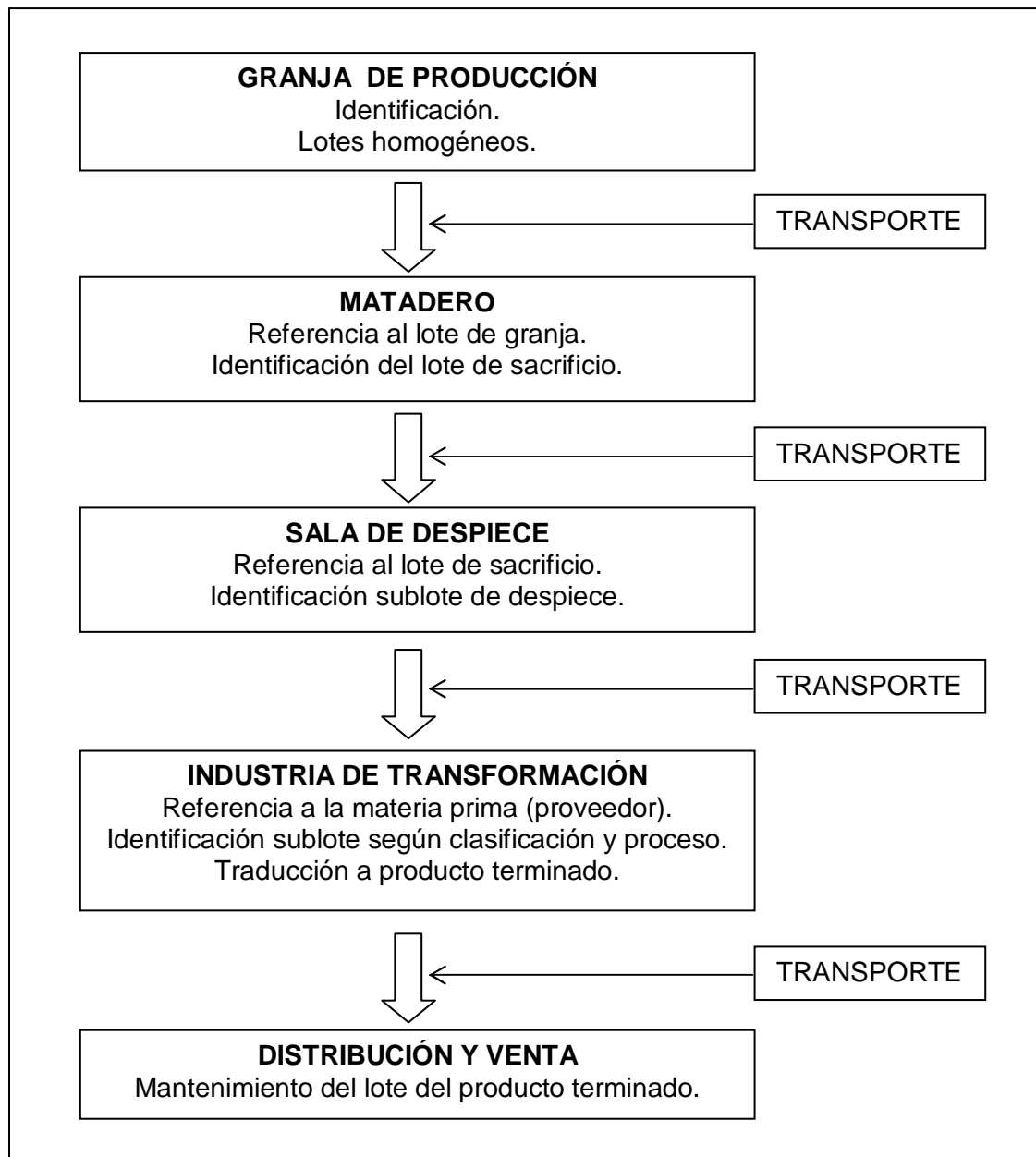
### **TRAZABILIDAD**

La trazabilidad es una herramienta para asegurar la calidad a lo largo del proceso de fabricación. Consiste en la posibilidad de establecer una asociación entre la materia prima y el producto obtenido a partir de las operaciones de transformación. Implica una secuencia de comparaciones ininterrumpida entre las etapas que influyen en la calidad del producto (Tapiador, 2000).

**Tabla E** Métodos analíticos e instrumentales para la determinación de factores de calidad de la carne (López-Bote, 1992).

FACTOR DE CALIDAD	OBJETO DE MEDIDA	MÉTODO/APARATO
<b>Calidad Organoléptica</b>		
- Color	Color y brillo	Göfo
- Forma y tamaño	Componentes del color	Hunterlab, etc.
- Firmeza	Área de corte	Planímetros
- Sabor y olor	Resistencia a fuerza mecánica	Texturómetro
	Compuestos responsables	Cromatografía de gases, HPLC, espectrometría de masas
<b>Calidad Nutritiva</b>		
- Proteína	Contenido en proteína	Kjedahl, Bradford
- Tejido conectivo	Tipo de proteína	Electroforesis, HPLC, etc.
- Grasa	Hidroxiprolina	Método colorimétrico, HPLC
	Contenido en grasa	Soxhlet, Mamer y Maxwell, Bligh y Dyer, etc.
	Composición de la grasa	Cromatografía de gases
- Minerales	Cenizas	Horno mufla, absorción atómica, etc.
- Vitaminas	Contenido en vitaminas	Calorimetría, cromatografía
<b>Calidad Higiénica</b>		
- pH	Determinación del pH	pH-metro
- Aspectos microbiológicos	Cantidad y tipo de microorganismos	Medios de cultivo, impedancia, calorimetría, radiometría, etc.
- Residuos	Metales pesados, hormonas	Absorción atómica, cromatografía de gases, HPLC, métodos inmunológicos, métodos biológicos, etc.
<b>Calidad Tecnológica</b>		
- Capacidad de Retención de Agua	Exudado, absorción de agua	Métodos de presión, evaluación de la desnaturalización proteica, capacidad de absorción de agua, etc.
- Grasa	Consistencia	Punto de fusión, índice de yodo, cromatografía de gases
- Viscosidad	Emulsión	Viscosímetro

Para mantener la trazabilidad durante toda la cadena desde la granja hasta el consumidor, se deben controlar diferentes propiedades en cada etapa. En la Figura A aparecen los principales elementos trazables en la industria cárnica.



**Figura A** Principales elementos trazables en la industria cárnica (Tapiador, 2000).

En la granja se identificarán: la genética, la alimentación y otros aspectos zootécnicos (edad y peso al sacrificio, etc.). Se construirán lotes homogéneos en cuanto a los parámetros anteriores.

En el matadero se controlarán: las condiciones higiénico sanitarias, la granja de procedencia, la identificación e incidencias del transporte, la fecha y hora de carga y descarga de los animales, la fecha de sacrificio, el resultado de la inspección *ante mortem*, el control de residuos, la fecha y hora de inicio de oreo y refrigeración y el tiempo hasta alcanzarse la misma, la clasificación de la canal, el rendimiento de las canales, otros parámetros solicitados por el destinatario de las carnes, el equipo humano que realizó el faenado, el resultado del análisis para la detección de triquina, el resultado de la inspección *post mortem* y el destino de las canales.

En la sala de despiece se mantendrá la trazabilidad: se hará referencia al lote del matadero, la fecha del despiece, la clasificación de las piezas obtenidas, la fecha de congelación (si se aplica), la identificación de la empresa y el lote de producción.

En la industria de transformación se controlan parámetros en la recepción de las materias primas, durante el proceso de transformación y en el acondicionamiento final. Al recepcionar las materias primas en la industria, se obtendrá información sobre el proveedor, el transporte desde el matadero o sala de despiece, los parámetros a la recepción (temperatura, estado higiénico sanitario, etc.), la clasificación de la carne, los lotes formados y el destino de las carnes. Durante la transformación se controlarán los parámetros de proceso y analíticos del producto. En el acondicionamiento final del producto elaborado para su comercialización, se controlarán aspectos relacionados con los atributos cualitativos como los parámetros físicos-químicos (peso, referencias analíticas, rendimientos), la categoría del producto, la marca comercial, la referencia a la manipulación final y la presentación. En el envasado y el embalado se identificarán los aspectos que deben mantenerse trazables hasta la unidad de venta.

Para implantar la trazabilidad en la industria cárnica se está desarrollando, actualmente, una tecnología basada en microchips informáticos. El único inconveniente es su elevado precio. En la granja, tradicionalmente los animales se identificaban mediante crotales, ahora se empiezan a utilizar microchips instalados en la piel. En el matadero y sala de despiece se enlaza la referencia con la granja mediante la identificación en el sacrificio con etiquetas indelebles fijadas a bridas que se colocan en las piezas cárnicas, también se pueden emplear microchips encapsulados. En la industria transformadora se emplean códigos de barras además de etiquetas fijadas con bridas y microchips.

## **ELABORACIÓN DEL JAMÓN CURADO**

El curado del jamón tiene dos objetivos fundamentales: la estabilización del producto, de forma que se mantenga a temperatura ambiente sin riesgo de alteración ni peligro para la salud del consumidor, y el desarrollo de las características sensoriales propias del jamón curado (Arnau, 1993).

El proceso de estabilización se realiza normalmente mediante salazón en seco que, a su vez, consta de dos etapas: la captación e integración de la sal en la pieza y la difusión salina que permite la distribución de este compuesto por todos los tejidos del pernil.

El desarrollo de las características organolépticas deseables para el jamón curado se produce durante la etapa de equilibrado o reposo, en la cual la sal alcanza las zonas más profundas de la pieza mediante difusión, y durante la fase de secado o maduración, en la que se controla tanto la humedad para conseguir un secado uniforme del producto como la temperatura para permitir las transformaciones necesarias y obtener un producto de alta calidad.

## **Tecnología del curado**

Las etapas del curado comprenden: la selección de la materia prima, el salado, el equilibrado o reposo y el secado o maduración.

Cuando los perniles se reciben en la fábrica se realiza una clasificación por lotes atendiendo a su peso y cantidad de grasa, factores que determinan el tiempo de procesado.

Antes de iniciar la salazón opcionalmente se recorta la piel del perril en forma de V.

### **• Salado**

En la etapa de salado, el jamón debe adquirir la cantidad de sal y de agente nitrificante suficiente para alcanzar la estabilidad microbiológica, conseguir un sabor ligeramente salado, una textura y un color adecuados. Si se utiliza únicamente sal, el jamón es microbiológicamente estable, pero la acción de ésta se ve favorecida al añadir nitratos y nitritos (Leistner, 1985).

Aunque existen numerosos métodos para salar productos cárnicos, todos ellos son modificaciones o combinaciones de dos: salado en seco y salado mediante salmuera. Se practican los siguientes: (1) salado en seco, en el que se emplea sal sola o en combinación con nitrato y/o nitrito y se aplica en piezas grasas como lomo graso o papada; (2) salado en seco convencional, en el que se utiliza sal, azúcar y nitrato y/o nitrito, siendo la práctica habitual frotar la mezcla de las sales de curado sobre la superficie del producto y mantenerlo en refrigeración (2-4 °C) durante aproximadamente 14 días por cada 5 cm de espesor de la pieza; (3) inmersión en salmuera, en la que se utilizan los mismos ingredientes que en el salado en seco convencional, pero las sales de curado se disuelven en agua para formar una salmuera y el producto se sumerge en este baño hasta que se alcanza el equilibrio entre la fase líquida y la masa de carne; (4) inyección arterial, en la que se inyecta salmuera en el sistema vascular arterial

de la pieza cárnica; (5) inyección por punción, en la que se bombea la mezcla de las sales de curado al interior de la carne utilizando una aguja con múltiples aberturas a lo largo de su longitud, realizándose 3-5 punciones por pieza de carne y liberándose unos 85 g de salmuera por inyección; y por último, (6) inyección por punción múltiple, que es similar a la inyección por punción con la excepción de que múltiples agujas penetran en la carne en cientos de puntos a distancias uniformes, bombeándose la salmuera hasta obtener el peso deseado.

En la elaboración del jamón serrano español se utiliza el sistema tradicional de salazón en seco. En primer lugar, se frota la superficie del pernil, manual o mecánicamente, para eliminar los posibles restos de sangre de los vasos sanguíneos que pueden ocasionar alteraciones a lo largo del proceso de curado. Se suele realizar un prensado de las piezas que moldea el jamón y disminuye su espesor facilitando la penetración de la sal hasta los músculos más internos (Boadas, 1997). La superficie del jamón se frota con la sal de curado, formada por una mezcla de sal común de tamaño de grano fino, nitrito sódico, nitrato potásico y, opcionalmente, ácido ascórbico y sacarosa (Ventanas y Córdoba, 1992). A continuación los jamones se apilan en filas, las cuales se cubren con una capa de sal común de tamaño de grano grueso. El apilado ocasiona una presión elevada, especialmente en los estratos inferiores, facilitando las pérdidas de agua (Boadas, 1997). Antiguamente el apilado se realizaba en el suelo de la cámara de salado, en la actualidad se emplean recipientes de acero inoxidable que evacuan bien la salmuera de exudado. La sal utilizada suele ser húmeda y la humedad ambiental elevada (90-95%) para evitar el resecado y facilitar la formación de una salmuera saturada en la superficie del jamón. La temperatura se mantiene a 2-4 °C para inhibir el desarrollo de microorganismos indeseables. La duración de la etapa de salado varía en función del peso de las piezas, normalmente se sitúa en 1 día por Kg de peso. La merma del jamón al final de la etapa oscila entre el 3 y el 7% y, si se tiene en cuenta la cantidad de sal absorbida, el agua total perdida es del 7 al 10% (Arnau, 1993).

Cuando la sal entra en contacto con la carne provoca la salida de jugo cárnico o exudado y se disuelve formando una salmuera saturada en la superficie

del jamón. Si la sal posee un tamaño de grano demasiado fino se disuelve a una velocidad excesiva y la salmuera resultante es muy concentrada, lo que provoca una presión osmótica muy elevada en las fibras musculares con la consiguiente pérdida de una cantidad excesiva de jugo cárnico y la desnaturalización de las proteínas de la superficie del pernil formándose una corteza que impide la posterior difusión de la sal. Por el contrario, si el tamaño de grano es excesivamente grueso, la salmuera no alcanza la concentración necesaria y la sal no penetra suficientemente.

La sal penetra en el jamón mediante difusión (Palmia, 1982) y tiende a conseguir el equilibrio salino en la fase acuosa. Los factores que afectan a la difusión son: la composición (grasa, agua, sal), la dirección del movimiento del agua con respecto a la dirección de las fibras musculares y la temperatura de secado (Gou y col., 1996). La difusión salina se ve favorecida al emplear tiempos largos y temperaturas entre 2 y 5 °C, ya que temperaturas más bajas dificultan la penetración de la sal y temperaturas superiores provocan la desnaturalización proteica.

La sal penetra casi exclusivamente por la parte magra y es necesario que difunda hasta las zonas más profundas, recubiertas por una capa de grasa subcutánea a través de la cual la difusión salina es escasa. La cantidad de sal empieza siendo más elevada en las zonas superficiales que en las profundas, invirtiéndose la situación posteriormente, a medida que se va secando el jamón. La explicación de este hecho se basa en la tendencia a igualarse los potenciales químicos en las diferentes zonas del jamón, lo que implica que debe igualarse la relación sal/agua en la medida de lo posible durante el tiempo de fabricación. No obstante, la presencia de barreras de grasa intermuscular, hueso y tejido conectivo dificultan el equilibrio.

La cantidad de sal ha de ser la correcta. Una concentración de sal insuficiente ocasiona la aparición de problemas tanto microbiológicos como de textura y una cantidad de sal elevada provocará la pérdida de la calidad del aroma del jamón (Verplaetse, 1994) y un sabor salado desagradable.



### Sales de curado

La mezcla curante utilizada en la elaboración del jamón serrano está formada por cloruro sódico, nitrito sódico, nitrato potásico y, opcionalmente, ácido ascórbico y sacarosa.

La principal función del cloruro sódico es la de conservación de la carne, participando también en el desarrollo del aroma, el sabor y la textura del jamón.

La pureza de la sal empleada en el curado es muy importante. Sólo se debe emplear sal de grado alimentario, ya que las posibles impurezas podrían causar problemas de color, aroma y sabor. Así, las impurezas de cobre, hierro y cromo presentes a nivel de trazas tienen un efecto marcado en el desarrollo del enranciamiento oxidativo en los productos cárnicos curados (Watts, 1954). Se tolera hasta un 2% de sales de magnesio sobre producto seco, calculadas como MgO, para contribuir a mantener la humedad de la sal (B.O.E. 01/06/1983).

El NaCl puede actuar como oxidante de la mioglobina porque disminuye la capacidad tampón de la carne y porque provoca el descenso de la solubilidad del oxígeno, facilitando la oxidación del  $\text{Fe}^{2+}$  a  $\text{Fe}^{3+}$  (Siedeman y col., 1984).

Otro aspecto de la salazón que juega un papel importante en el desarrollo de las características del jamón es la presencia de microorganismos halotolerantes como contaminantes de la sal, entre los que destacan los micrococos. Estos microorganismos son muy resistentes, pueden subsistir en la sal durante largos periodos de tiempo y crecer en presencia de los jugos cárnicos que salen del pernil (León Crespo y col., 1987). Para aprovechar la presencia de estos microorganismos, en la industria se reutiliza la sal (a la que se va añadiendo sal nueva) ya que posteriormente desempeñan un papel importante durante la maduración del jamón por su capacidad lipolítica y proteolítica.

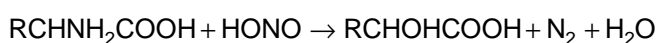
Las concentraciones de NaCl registradas en el jamón al final del proceso no son bactericidas pero sí bacteriostáticas. Así, para el jamón serrano español

los valores finales de NaCl oscilan entre el 4,7 y el 8,7% referidos a extracto húmedo (León Crespo y col., 1983) frente al 4,7-7,3% del jamón de Parma italiano (Palmia, 1982) o el 4,7-9,5% del jamón americano (Kemp y col., 1968).

La adición de sal al jamón provoca un aumento de la capacidad de retención de agua (CRA) de la carne debido a la disminución del punto isoeléctrico de las proteínas.

El ion nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ), procedente del nitrito sódico añadido o de la reducción bacteriana del nitrato potásico, es altamente reactivo. En los sistemas biológicos el conjunto ion nitrito-ácido nitroso puede participar en reacciones bioquímicas, tales como:

- Reacción de Van Slyke: un  $\alpha$ -aminoácido origina el correspondiente  $\alpha$ -hidroxiácido y nitrógeno gaseoso:



En el curado de la carne parte del nitrito puede desaparecer como consecuencia de esta reacción en forma de nitrógeno gas.

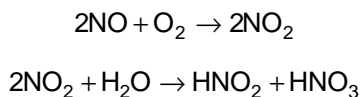
- El ácido nitroso puede reaccionar con monofenoles, como la tirosina, para producir compuestos nitrogenados monoácidos disustituidos o bien productos de diazotación, dependiendo de las condiciones. Es probable que reacciones similares tengan lugar en la carne.

- En disoluciones débilmente ácidas, el ácido nitroso puede descomponerse según la reacción:



Esta reacción es reversible y puede ser la suma de al menos dos reacciones en las que el tetraóxido de dinitrógeno ( $\text{N}_2\text{O}_4$ ) actúa como intermediario. En presencia de oxígeno, el óxido nitroso formado en disolución

puede oxidarse a dióxido de nitrógeno (NO<sub>2</sub>). A su vez, este dióxido de nitrógeno puede dar lugar a ácido nítrico y nitroso:



Se duda si puede haber suficiente oxígeno en la carne para que la oxidación del NO sea significativa. Sin embargo, en salmueras curantes es posible que tal oxidación alcance una extensión considerable, especialmente si la disolución se mantiene durante largos periodos de tiempo o la temperatura se eleva por encima de 15-20 °C.

El óxido nítrico es un producto de la descomposición del nitrito de la mezcla curante directamente relacionado con la reacción de formación de nitrosomioglobina, responsable del color característico de los productos curados.

Cassens y col. (1979) encontraron que la cantidad de nitrato residual que queda en la carne curada es el 1-10% del añadido y la de nitrito residual es el 5-15%, el cual desaparece en forma de gas (N<sub>2</sub> o NO<sub>x</sub>) (1-5%), queda enlazado a mioglobina (5-15%), ligado a las proteínas (20-30%), ligado a la grasa (1-5%) y reacciona con sustancias reductoras (como grupos –SH) (5-15%).

Las principales funciones que desempeña el nitrito en los productos cárnicos son:

- *Efecto conservante*: el nitrito ayuda a que la sal ejerza su acción conservante, ya que altera las características de permeabilidad del tejido muscular, facilitando la captación de la sal.
- *Inhibición del crecimiento bacteriano*: depende de la concentración de sal, del pH, de la presencia de nitrato, de la contaminación bacteriana, de la temperatura de almacenamiento y de si el producto sufre un tratamiento térmico o no.

Diversas investigaciones han demostrado la efectividad del nitrito como inhibidor del crecimiento de *Clostridium botulinum* en productos cárnicos, el cual produce una potente neurotoxina que puede causar la muerte. Se encuentra generalmente en forma de espora latente, siendo inocuo en ese estado. Se cree que el nitrito no inhibe el proceso de conversión de espora en célula vegetativa (sintetizadora de la toxina), sino la división posterior de las células para formar colonias.

Para evitar problemas de cala y la formación de la toxina botulínica, temperaturas inferiores a 5 °C, un mínimo del 4,5% de NaCl en todas las partes del jamón y la adecuada selección de la materia prima son criterios más importantes que la adición de nitrito y nitrato (Leistner, 1985).

- *Estabilización del color*: el óxido nítrico procedente de la reducción de nitrito o de nitrato reacciona con la mioglobina para formar un complejo covalente ferroso, nitrosomioglobina, muy estable y responsable del color típico del curado.

- *Contribución al aroma y sabor*: el nitrito es una sustancia altamente reactiva capaz de combinarse con una gran diversidad de componentes de la carne dando lugar a compuestos de olor y sabor deseables. Aproximadamente el 40% del nitrito añadido reacciona con las proteínas y lípidos del tejido muscular precursores de los compuestos responsables del flavor; también reacciona directamente con algunos de estos compuestos suprimiendo o creando nuevos aromas: hidrocarburos aromáticos, terpenos, alcoholes, carbonilos, furanos, aminas acíclicas, pirazinas, piridinas, pirroles y compuestos sulfurados (Töth, 1983).

Además, se ha descrito un efecto antioxidante del nitrito. Watts (1954) mostró que el nitrito retrasaba el desarrollo de la rancidez oxidativa. Este efecto se observó incluso en presencia de NaCl, que tiende a favorecer la oxidación de los lípidos presentes en los productos cárnicos curados. El efecto del nitrito sobre el enranciamiento se debe probablemente a la misma reacción que es

responsable del desarrollo del color. Los iones hierro del hemo son catalizadores activos de la oxidación lipídica. La reacción de los pigmentos con el nitrito retiene el hierro en el hemo, a menudo en su forma reducida ( $\text{Fe}^{2+}$ ), que no funciona como catalizador. Asimismo, durante el curado se forma S-nitrosocisteína, que tiene propiedades antioxidantes (Kanner, 1979).

La adición excesiva de nitrito y nitrato a la sal de curado puede derivar en un efecto tóxico, ya que participan en la formación de nitrosaminas cancerígenas, que se forman cuando un grupo nitroso ( $-\text{N}=\text{O}$ ), generalmente proveniente del ácido nitroso ( $\text{H}-\text{O}-\text{N}=\text{O}$ ), se incorpora a un átomo de nitrógeno de ciertos compuestos nitrogenados (principalmente aminas secundarias), favoreciendo el desarrollo de esta reacción las temperaturas elevadas. La legislación española (ORDEN 24/01/85) permite un máximo de 75 ppm de nitrito sódico y 200 ppm de nitrato potásico en el producto terminado, aunque si se utilizan conjuntamente no han de sobrepasar las 250 ppm. De esta forma se puede reducir la exposición del consumidor al peligro potencial que entrañan las nitrosaminas, a la vez que se mantienen los niveles de nitrito necesarios para evitar la intoxicación botulínica.

#### • **Equilibrado o reposo**

Una vez finalizado el periodo de salazón se lavan los perniles con agua tibia a presión y/o se cepillan para eliminar la sal que queda adherida a la superficie. Seguidamente se cuelgan en bastidores de acero inoxidable y se deja escurrir el agua durante al menos 2 días antes de pasar a la etapa de reposo.

La finalidad principal de esta etapa es conseguir el reparto de la sal por todo el jamón, al mismo tiempo que se logra una ligera deshidratación. La superficie del jamón se cubre por una capa de hongos, mientras que en el interior, la flora dominante son los *G. Micrococcus* y *G. Staphilococcus*. Así se inhibe el crecimiento de los microorganismos alterantes causantes de la putrefacción profunda, ya que la actividad del agua se sitúa por debajo de 0,96 en toda la pieza (Nicolau, 1985).

Las temperaturas de esta fase oscilan entre 3-5 °C y la humedad relativa entre 80-90%. Es importante controlar la velocidad de secado del aire para compensar la cantidad de agua que se evapora en la superficie y la difusión de agua desde el interior al exterior del jamón. En caso contrario pueden presentarse dos problemas tecnológicos: (a) el encostrado o acortezamiento, que ocurre cuando la evaporación de agua en la superficie de la pieza es excesiva, lo cual provoca un aumento de la concentración de la sal en esa zona que origina fenómenos de precipitación proteica y la formación de una corteza impermeable que impide la desecación posterior del producto (Poma, 1980). (b) El remelo, originado por una condensación superficial o porque la velocidad del agua que difunde hacia la superficie es mayor que la capacidad de evaporación del aire, lo que origina un limo superficial formado por *Micrococcus* y *Staphilococcus* (Poma, 1987) y precipitados salinos, principalmente monohidrógenofosfato de sodio (Arnau y col. 1993). Al secarse el jamón esta capa mineral forma el encostrado. La formación de los cristales de monohidrógenofosfato de sodio está favorecida por las bajas temperaturas, pH elevado y alta concentración de NaCl (Arnau, 1993). En algunos casos se aplican conservantes de tratamiento superficial para evitar el crecimiento de *Micrococcus* y *Staphilococcus*.

La duración de esta etapa suele ser de un mes y la merma del jamón es 10-15%. En jamón ibérico, esta fase puede prolongarse a tres meses debido a la lentitud en la penetración de sal ocasionada por el elevado porcentaje de grasa inter e intramuscular.

#### • **Secado o maduración**

En la etapa de secado o maduración el jamón se sigue deshidratando y continúan los fenómenos bioquímicos de proteólisis y lipólisis, responsables de las características sensoriales del producto.

La temperatura aumenta paulatinamente desde 10-12 °C a 28-30 °C y la humedad relativa oscila entre 65-80%. El periodo en el que la temperatura

alcanza los 30 °C se denomina estufaje. El aumento de la temperatura da lugar a la fusión de la grasa, que impregna todo el tejido muscular.

La duración del secado es variable, suele ser de 6-7 meses, con una merma final del 33%, aproximadamente.

Durante el secado y el estufaje puede ocurrir el resquebrajamiento de la masa muscular situada en torno a la articulación coxofemoral, dando lugar a la formación de cavidades en las que se desarrollan olores desagradables a "bodega húmeda" debido al crecimiento de *Micrococcus* y *Staphilococcus* (Hugas y Arnau, 1987), hongos y ácaros, principalmente. Este problema se conoce a nivel industrial con el nombre de "coquera". Se puede combatir mediante un secado más suave y la aplicación de manteca en el hueso coxal hacia la mitad del proceso (4-5 meses de procesado).

Después del estufaje los jamones son comercializados directamente o bien reciben un proceso de afinado en bodega donde se someten a temperaturas suaves entre 12-15 °C y humedad relativa ambiente.

Al terminar la etapa de afinado en bodega, cada jamón se somete a un control individual realizado por técnicos especialistas de la empresa: en primer lugar presionan la pieza con las manos para verificar si la textura es adecuada, y después insertan un hueso en determinados puntos del jamón para eliminar aquéllos que presenten olores anormales (cala). Las zonas donde se realiza la cala son las que normalmente presentan más problemas por el crecimiento de microorganismos: intersticios del hueso coxal, arteria femoral y codillo.

### **Presentación comercial**

Los jamones curados españoles, atendiendo a la especie de cerdo de la que procedan se clasifican en:

- Jamones de cerdo ibérico
- Jamones de cerdo blanco.

La comercialización del jamón curado tradicionalmente se ha realizado en piezas enteras, sin embargo en los últimos años ha aumentado la comercialización del producto transformado:

- Piezas enteras deshuesadas
- Trozos de jamón
- Loncheado
- Tacos o picadillo.

La conservación de este tipo de productos se ha realizado mediante distintas técnicas de envasado:

- Al vacío, que presenta las siguientes ventajas: aprovechamiento de la pieza, facilidad de loncheado, homogeneización de la textura y eliminación de problemas de ácaros o un secado excesivo (Arnau, 1998b). Por otro lado, si el jamón permanece mucho tiempo envasado al vacío pueden desarrollarse olores y sabores desagradables, por lo que en estos casos sería preferible congelarlo envasado al vacío. El envasado de jamones congelados puede facilitar la formación de pintas blancas (Arnau y col., 1995), pero permite conservar el aroma durante largos periodos de tiempo y frena la formación de velo blanco en los productos loncheados. Por otra parte, la congelación de las piezas sin envasar puede ocasionar la pérdida de sustancias volátiles, lo que disminuye el aroma del producto.

- En atmósfera modificada, que permite una presentación más natural de las lonchas, ya que evita su adhesión así como el aspecto encerado de las lonchas superficiales. La mezcla gaseosa no debe contener oxígeno para evitar el deterioro del color y del aroma. El gas más utilizado es el nitrógeno, aunque el CO<sub>2</sub> puede ser de utilidad para mejorar la presentación o la conservación de los



jamones con valores de actividad del agua elevados. El tipo de plástico debe evitar que la mezcla gaseosa se vea afectada (Arnau, 1998b).

### **Estabilidad microbiológica durante el curado**

Durante las etapas de salado, lavado y reposo se produce una selección de la microbiota en el curado del jamón. Aparece como flora dominante y, en principio, beneficiosa los géneros *Micrococcus* y *Staphylococcus* y disminuyen los grupos minoritarios y no deseables como *Fam. Enterobacteriaceae*, Coliformes, Estafilococos coagulasa positivos, Estreptococos fecales, aunque esta microbiota continúa en mayor o menor medida durante el resto del proceso (Hugas y col., 1987; Carrascosa y col., 1988; Cornejo y col., 1988).

Los géneros *Micrococcus* y *Staphylococcus*, presentes tanto en salmueras como en el interior de las piezas, mejoran la calidad sensorial y microbiológica del jamón: producen la reducción del nitrato y la eliminación de peróxidos, lo que contribuye al desarrollo y estabilización del color y a la inhibición de la rancidez de la grasa. También participan en la lipólisis, contribuyendo al aroma y al sabor del jamón.

Durante el proceso se desarrollan mohos y levaduras que reducen la tensión de oxígeno superficial, eliminan peróxidos y crean una capa superficial que protege de la luz a la pieza. Por tanto, inhiben la oxidación de las grasas y el desarrollo de rancidez y mejoran la retención del color. También crean un microclima favorable en la superficie, con lo que evitan que se seque y que presente un aspecto grasiento (Lüke, 1986).

### **Factores que regulan el desarrollo microbiológico**

Los parámetros de control para la vigilancia del curado son: el pH, la temperatura, la actividad del agua ( $a_w$ ) y la concentración de cloruros, nitratos y nitritos de las piezas.

El pH de la materia prima no es en sí mismo una barrera para el desarrollo de los microorganismos indeseables, pero sí una garantía de que se va a poder realizar el proceso de salazón y reposo de forma correcta. El pH del músculo a las 24 horas postmortem se encuentra próximo a 5,5, valor desfavorable para el crecimiento de microorganismos. Se reduce el crecimiento de los gérmenes esporulados anaerobios, en particular del género *Clostridium*. No obstante, no impide la putrefacción debido a que ciertos microorganismos crecen con valores de pH entre 4,5-4,7 inferiores al valor mínimo que se alcanza en los perniles antes de la salazón. El pH alcanzado durante el curado (próximo a 6) no es un impedimento para el crecimiento de diferentes grupos microbianos (Giolitti y col., 1971b, Raczynski y col., 1978, León Crespo y col., 1984, Melo y col., 1974).

Los valores de temperatura adecuados sí constituyen un impedimento para el desarrollo microbiano. En general, las temperaturas de refrigeración (entre  $-1$  y  $7$  °C) retardan la acción enzimática tisular y prolongan la fase de latencia de los microorganismos. Durante la refrigeración de las canales se inhibe el crecimiento de *Clostridium putrefaciens*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* y *Clostridium botulinum* (Jóciles y col., 1983). Por otro lado, el proceso de congelación-descongelación de la carne es bastante selectivo: las esporas de los géneros *Bacillus* y *Clostridium*, así como células vegetativas de los géneros *Micrococcus*, *Staphylococcus* y *Streptococcus* son altamente resistentes a la congelación (Jóciles y col., 1983). Para evitar la putrefacción profunda del jamón, la temperatura debe ser inferior a  $10$  °C hasta que se haya obtenido una estabilización adecuada gracias a la disminución de la actividad del agua por debajo de 0,97 (León Crespo y col., 1987). En la etapa de maduración la temperatura aumenta a medida que disminuye la actividad del agua en el jamón. Se pueden alcanzar los  $30-35$  °C sin riesgo de crecimiento de microorganismos patógenos.

Los valores suficientemente bajos de la  $a_w$  establecen una barrera para el desarrollo microbiano. La  $a_w$  es el factor que durante el secado controla el desarrollo de la microbiota del jamón y que más va a contribuir a la estabilidad del

producto final. La mayoría de las bacterias se desarrollan normalmente a valores de  $a_w$  superiores a 0,90. Sus velocidades de crecimiento descienden por debajo de este valor, pero la  $a_w$  mínima varía entre las diferentes especies de microorganismos. Durante el curado los valores de  $a_w$  disminuyen progresivamente y son diferentes en las distintas zonas del jamón. Huerta (1986) encontró que en las zonas más externas del jamón, la  $a_w$  descendió tras la salazón (0,88), tras el periodo de reposo aumentó (0,91) y hasta el final del proceso de elaboración experimentó un nuevo descenso. En las zonas profundas la disminución de la  $a_w$  fue más constante, siendo el valor final ligeramente superior al alcanzado en la zona superficial. En jamón curado de cerdo blanco se han registrado valores entre 0,71 y 0,81 (Silla y col., 1985).

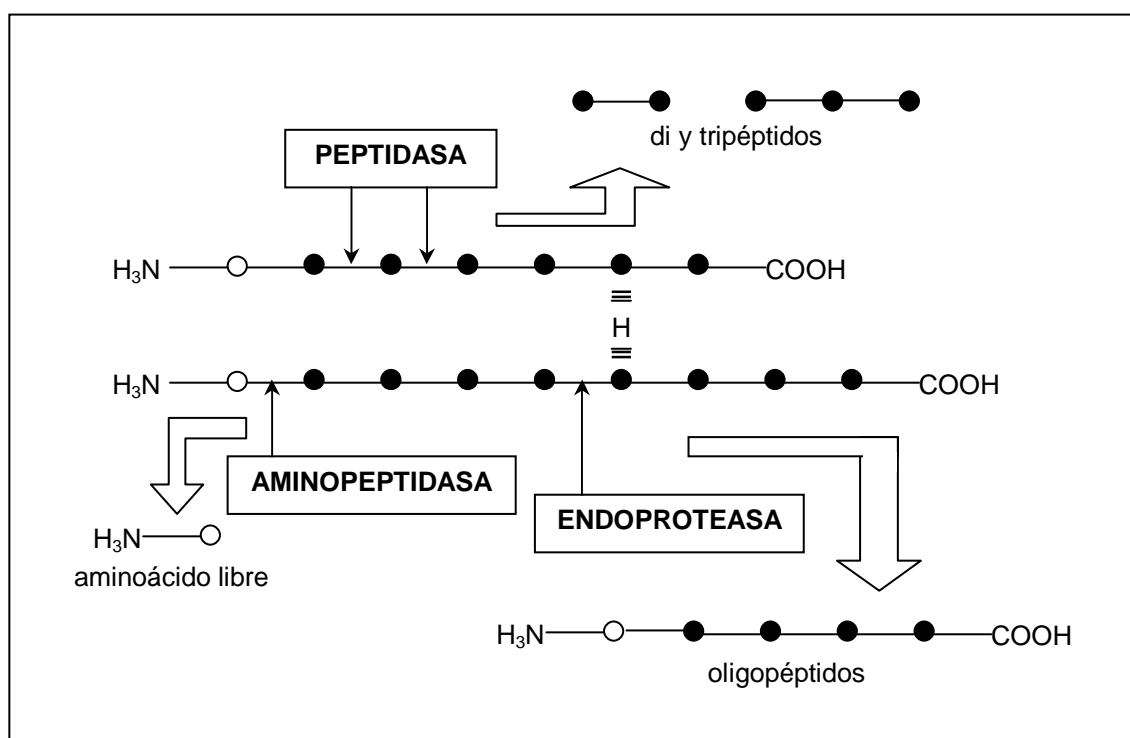
## **PRINCIPALES CAMBIOS QUÍMICOS Y BIOQUÍMICOS DURANTE EL CURADO DEL JAMÓN**

Durante el curado del jamón se produce una gran cantidad de reacciones de naturaleza enzimática (proteolisis y lipolisis) y de naturaleza química (oxidación de lípidos, interacciones entre proteínas y lípidos, reacción de Maillard, degradación de Strecker y formación de nitrosomioglobina).

Las reacciones de proteolisis y lipolisis están catalizadas por proteasas y lipasas, respectivamente, de origen endógeno o microbiano. En el jamón curado, ambas reacciones se atribuyen principalmente a sistemas enzimáticos endógenos (Toldrá y Etherington, 1988; Molina y Toldrá, 1992, García Ruiz y col., 2001), debido a que los recuentos de microorganismos en el interior del producto son muy bajos y no se utilizan cultivos iniciadores. No obstante, se ha demostrado la capacidad proteolítica y lipolítica de ciertos microorganismos aislados en diferentes etapas del proceso de curado (Carrascosa y Cornejo, 1991; Molina y col., 1991).

## Proteolisis

La proteolisis consiste en la degradación de las proteínas sarcoplasmáticas y miofibrilares, principales constituyentes del magro, por diversas enzimas musculares como las catepsinas B, D, L y H, las calpaínas I y II y el proteasoma. La acción de estas proteinasas conlleva una degradación de las proteínas responsables de la estructura de la carne y, por consiguiente, un aumento de la terniza. Los péptidos resultantes son degradados por las peptidasas y las aminopeptidasas por su extremo amino terminal (Figura B). Finalmente, las aminopeptidasas hidrolizan los di y tripéptidos generando aminoácidos libres que influyen notablemente en el sabor (Toldrá, 1998).



**Figura B** Mecanismo de actuación de las enzimas proteolíticas (Toldrá, 1998).

### Proteasas musculares

Los principales sistemas enzimáticos implicados en la degradación de las proteínas miofibrilares son las calpaínas, las catepsinas y el proteasoma.

#### *Calpaínas*

Las calpaínas se encuentran en el citoplasma de las células del tejido muscular, son cisteinproteinasas (en el sitio catalítico de la enzima se encuentra un residuo de cisteína), muestran su máxima actividad a pH neutro (7-7,5), necesitan la presencia de  $\text{Ca}^{2+}$  y condiciones reductoras. Las calpaínas también son conocidas como proteasas neutras activadas por  $\text{Ca}^{2+}$  (CANP), factor neutro activado por  $\text{Ca}^{2+}$  (CAF) y factor sarcoplásmico activado por  $\text{Ca}^{2+}$  (CASF).

Se conocen dos isoformas de la calpaína: la  $\mu$ -calpaína (calpaína I), que se activa a concentraciones entre 50-70  $\mu\text{M}$  de  $\text{Ca}^{2+}$ , y la m-calpaína (calpaína II), que se activa a concentraciones de  $\text{Ca}^{2+}$  superiores, entre 1-5 mM (Asghar y Bhatti, 1987). Las dos isoformas son heterodímeros de 110 kDa formados por una subunidad catalítica de 80 kDa y otra de 30 kDa con función desconocida (Bond y Butler, 1987).

Las calpaínas para romper enlaces peptídicos necesitan cadenas polipeptídicas largas, pero no requieren ninguna secuencia específica de aminoácidos. Poseen poca actividad a pH=6. Etherington (1984) señaló que posiblemente estuvieran inactivas a valores de pH comprendidos entre 5,5 y 6,0; sin embargo, Koohmaraie y col. (1986) detectaron actividad de la calpaína I entre valores de pH 5,5 y 5,8 a 5°C.

El inhibidor específico de la calpaína es la calpastatina, que también requiere  $\text{Ca}^{2+}$  y se encuentra en cantidades suficientes en el músculo como para inhibir completamente su actividad mediante la formación de un complejo calpastatina-calpaína (Dransfield, 1993). Existen otros inhibidores inespecíficos como las cistatinas, ácido iodoacético y diferentes cationes divalentes.

## *Catepsinas*

Las catepsinas son endopeptidasas situadas en los lisosomas del citoplasma de la célula animal. En el músculo esquelético se encuentran ocho de ellas: catepsina A, B, C, D, H, L, J y la carboxipeptidasa B (esta última es una exopeptidasa). Las catepsinas B, D, H y L poseen una masa molecular comprendida entre 20-40 kDa y son las que presentan mayor actividad a los valores de pH ácidos del músculo esquelético (3-6; 2,5-4,5; 5-7; y 3-6, respectivamente) (Smulders y col., 1995).

Las catepsinas B, L y H son cisteinproteinasas, se consideran las más activas dentro de las enzimas tisulares y pierden su actividad irreversiblemente a valores de pH superiores a 7 (Turk y col., 1995) siendo la catepsina L la más inestable (Turk y col., 1994). El análisis de la actividad de estas enzimas se basa en un método fluorimétrico con derivados aminometilcumarilamidas como sustratos enzimáticos. Para la catepsina B se utiliza Z-Arg-Arg-NHMec, para la catepsina H se emplea Arg-NHMec, pero para la catepsina L no existe un sustrato fluorimétrico específico, por lo que se determina la actividad conjunta de catepsinas B+L mediante Z-Arg-Phe-NHMec. La velocidad de degradación de proteínas de la catepsina L es 10 veces superior que la de las catepsinas B o H. La catepsina H posee actividad endo y aminopeptidasa, razón por la que Okitani y col. (1981) propusieron clasificarla como aminoendopeptidasa.

La catepsina D es una aspartatoproteinasa. Para analizar su actividad enzimática se utiliza hemoglobina como sustrato proteico y se determinan los fragmentos peptídicos liberados como consecuencia de la digestión enzimática.

La actividad de las cisteinproteinasas está regulada por sus inhibidores fisiológicos, las cistatinas (Turk y Bode, 1993), que se unen de forma reversible al centro activo de la enzima, que queda inaccesible para el sustrato (Anastasi y col, 1983). Las cistatinas protegen a la célula de una proteólisis endógena y exógena inadecuada y, por tanto, participan en los mecanismos de regulación de la síntesis y degradación proteica (Sárraga, 1998). Parreño y col. (1994) definieron

que la actividad inhibitoria evoluciona en paralelo a la actividad enzimática en el jamón curado, de forma que se produce una disminución progresiva de ambas a lo largo del curado. Además, existen otros tipos de inhibidores de las cisteinproteinasas, tales como yodoacetato, cloruro de mercurio, antipaína, leupeptina, quimostatina, clorometilcetonas y  $\alpha$ 2-macroglobulina.

### *Proteasoma*

El proteasoma es otro sistema enzimático que interviene junto con las catepsinas y calpaínas en la maduración de la carne, aunque posee una menor incidencia (Rivett, 1989). Se trata de un complejo multicatalítico presente en el citosol de la célula muscular con un pH óptimo de actuación comprendido entre 7,5 y 8.

### Proteolisis durante la maduración *post mortem* de la carne

La transformación del músculo en carne tiene lugar en dos etapas: en un primer momento se instaura el *rigor mortis*, ocasionado por la formación de enlaces entre los filamentos gruesos (miosina) y delgados (actina) y el agotamiento de las reservas de ATP (Etherington, 1984), lo cual provoca la acidificación (el pH disminuye desde 7,2 hasta 5,5, aproximadamente) y pérdida de elasticidad del tejido muscular, que alcanza su máxima dureza. En la segunda fase, denominada de almacenamiento, acondicionamiento o envejecimiento, el músculo se transforma en carne mediante un aumento gradual de la terneza, debido a cambios estructurales y bioquímicos que, según Ouali (1990) y Smulders y col. (1991), dependen de factores biológicos como la especie y la raza, la edad, el sexo, el tipo de músculo y de factores tecnológicos como el sistema de sacrificio, la temperatura y el pH. Así, Whipple y Koohmaraie (1992) observaron menor proteolisis en músculos de animales más jóvenes y con mayor cantidad de fibras oxidativas, lo cual atribuyeron a la elevada actividad calpastatina que mostraron a las 24 h *post mortem*, que regula la actividad de la calpaína I previniendo la degradación de las proteínas miofibrilares. Flores y col. (1994) compararon tres líneas genéticas comerciales de cerdo blanco y

encontraron mayor actividad de catepsinas B+L y H en el músculo *Biceps femoris* a 12 h *post mortem* en aquellos animales que contenían sangre Duroc.

La terneza de la carne depende del tejido conectivo (que determina la “dureza de base”) y de la estructura de las miofibrillas y del citoesqueleto (que definen la “dureza miofibrilar”) (Ouali, 1990).

El tejido conectivo está formado por colágeno (65-95%) y elastina (5-35%), proporcionando esta última menos rigidez que el primero. Durante el acondicionamiento las propiedades mecánicas del colágeno se mantienen prácticamente inalteradas (Ouali, 1990), por tanto, se ha atribuido la disminución de la dureza de la carne a los cambios estructurales y bioquímicos que ocurren a nivel de las miofibrillas. No obstante, Takahashi (1996) encontró que el debilitamiento del tejido conectivo intramuscular (endomisio y perimisio) también contribuye al incremento de la terneza de la carne.

Las proteínas miofibrilares se clasifican en contráctiles, reguladoras y citoesqueléticas. Las proteínas mayoritarias son la miosina y la actina, que comprenden el 43 y 22% de las proteínas miofibrilares, respectivamente, y están relacionadas con la contracción y relajación del músculo. Las principales proteínas reguladoras son tropomiosina y troponinas C, I y T, que se encuentran asociadas con la actina. Las proteínas citoesqueléticas (titina, nebulina, desmina, vinculina) mantienen la forma y funciones de la célula muscular (Smulders y col., 1995).

Los factores que intervienen en la desestabilización de las estructuras miofibrilares son de carácter físico-químico y enzimático:

#### a) Factores físico-químicos

Los factores físico-químicos implicados en el envejecimiento de la carne son: la velocidad de descenso y el valor final del pH (Dransfield, 1994), la



temperatura, la elevación de la fuerza iónica y de la presión osmótica (Ouali, 1990 y 1992), y el incremento en la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  (Takahashi, 1996).

#### b) Factores enzimáticos

Existen discrepancias en cuanto a la proteólisis catalizada por cada uno de los tres sistemas proteolíticos más importantes del músculo esquelético. Algunos trabajos consideran que las catepsinas son las responsables de la proteólisis (Cohen y Trusal, 1980), otros se inclinan por asignar ese papel a las calpaínas (Koohmaraie y col., 1986; Koohmaraie y col., 1988; Uytterhaegen y col., 1994). El tercer sistema enzimático, proteasoma o proteasa multicatalítica, aunque es capaz de degradar numerosas proteínas, no parece ejercer influencia en el proceso proteolítico relacionado con el aumento de la terneza (Koohmaraie, 1992).

Además de la vía enzimática, otros autores han propuesto otros procesos de naturaleza no enzimática para explicar los cambios observados en las proteínas durante la maduración (Dransfiel, 1994; Ouali, 1990 y 1992; Takahashi, 1996).

Para explicar la mayoría de las modificaciones se debe considerar una acción conjunta de los sistemas enzimáticos, ya que cada uno por separado no es capaz de producir todos los cambios (Etherington, 1984; Valin y Ouali, 1992). Taylor y col. (1995) sugieren que las calpaínas podrían ser las responsables de la proteólisis durante los primeros 3-4 días *post mortem*, mientras que la contribución de las catepsinas ocurriría principalmente a partir de los 6 días *post mortem*, cuando el pH muscular es bajo y se ha creado un ambiente reductor a partir de la glucólisis anaeróbica (Etherington, 1987).

Las calpaínas degradan a la troponina-T e I, la tropomiosina, la proteína-C, la filamina, la desmina y la vinculina, mientras que en condiciones similares no son capaces de hidrolizar a la miosina, la actina y la  $\alpha$ -actinina (Goll y col., 1983; Koohmaraie, 1988).

Las catepsinas B, L, H y D son capaces de degradar proteínas musculares durante el periodo de envejecimiento (Ouali y col., 1987). En la Tabla F aparecen las proteínas miofibrilares que pueden ser sustrato de estas enzimas (Arnau y col., 1992). Se ha comprobado experimentalmente que las catepsinas solamente degradan a la miosina y a la actina, a temperaturas superiores a las de refrigeración (Smulders y col., 1995). Al incubar fibras musculares con catepsina D y L se observó la degradación de las líneas Z (Mikami y col., 1987). Ouali (1990) puso de manifiesto que al tratar las miofibrillas con un extracto lisosomal purificado se producían los cambios bioquímicos y estructurales propios de la carne madurada.

**Tabla F** Proteínas miofibrilares que pueden actuar como sustrato de las catepsinas (Arnau y col., 1992).

PROTEASA	SUSTRATO PROTEICO
Catepsina B	Miosina de cadena pesada, troponina-T, actina, colágeno y elastina
Catepsina L	Miosina de cadena pesada, actina, troponina-T e I, troponiosina, $\alpha$ -actinina, colágeno, elastina, tinina y nebulina
Catepsina H	Miosina de cadena pesada, troponina-T y colágeno
Catepsina D	Miosina de cadena pesada, troponina-T e I, $\alpha$ -actinina, tropomiosina, actina y colágeno

Etherington y col. (1987) y Koohmaraie y col. (1988) no encontraron relación entre el aumento de la terneza de la carne y la actividad catepsínica. Por el contrario, en el músculo *Longissimus dorsi* de bovino, Calkins y Seideman (1988) encontraron una correlación significativa entre el aumento de la terneza entre 1 y 4 días con la actividad de catepsina B, y Johnson y col. (1990) establecieron relación entre la terneza alcanzada a los 10 días *post mortem* y la

actividad de las catepsinas B+L. En este sentido Troy (1999) prolongó el estudio hasta 14 días después del sacrificio y demostró la misma relación.

### *Modificaciones estructurales y cambios bioquímicos en el músculo esquelético*

Como consecuencia de los factores físico-químicos y enzimáticos descritos en el apartado anterior, durante la etapa de maduración del músculo se aprecia una serie de modificaciones estructurales y de cambios en los aspectos bioquímicos de la carne.

En cuanto a las modificaciones estructurales, destacan los efectos observados a nivel microscópico y a nivel ultraestructural:

- Nivel microscópico: se produce la fractura de los discos Z.
- Nivel ultraestructural: se describen diferentes modificaciones como la separación de los filamentos delgados, la fragmentación de las miofibrillas a nivel de las líneas N-2 (zonas donde confluyen los filamentos de titina y de nebulina), la pérdida de la alineación transversal de los sarcómeros y la fragmentación de los filamentos de titina (Gil, 1996).

Los principales cambios bioquímicos *post mortem* observados durante el periodo de maduración son el aumento de la extractabilidad en tampones de alta fuerza iónica de las proteínas miofibrilares, la alteración de la actividad ATPasa y la degradación proteica, puesta de manifiesto mediante electroforesis en gel de poliacrilamida en presencia de dodecil sulfato sódico (SDS-PAGE) (Ouali, 1990).

La proteólisis de ciertas proteínas miofibrilares es la principal causa de la pérdida de la integridad estructural del músculo esquelético y del aumento de la ternura de la carne (Penny, 1984; Koohmaraie, 1992) y ha sido estudiada fundamentalmente mediante SDS-PAGE. Durante la maduración se ha observado la desaparición de la troponina-T, relacionada con el aumento de la ternura de la carne (Penny y Dransfield, 1979; Butts y col, 1986). Este hecho se puede considerar un indicador del curso de la maduración y del grado de

actividad proteolítica. También se ha descrito la degradación de la troponina-I y la miosina de cadena pesada (Yates y col., 1983). Otras proteínas citoesqueléticas que desaparecen durante la maduración son la nebulina, la titina, la desmina y la filamina (Lusby y col., 1983; Fritz y Greaser, 1991; Claeys y col., 1995). Como consecuencia de esta pérdida se ha observado la aparición de fragmentos polipeptídicos de masa molecular comprendida entre 25-34 kDa (Ouali, 1990). El que aparece en concentración más elevada es el fragmento de 30 kDa (Claeys y col., 1995; Negishi, 1996), que se ha propuesto como indicador del envejecimiento de la carne de bovino (Penny, 1984; Negishi, 1996) ya que su concentración correlaciona con índices mecánicos ( $r=0,90$ ) y bioquímicos ( $r=0,94$ ) que miden el incremento en la terneza de la carne. El origen de este fragmento se ha relacionado con la desaparición de la troponina-T (Buts y col., 1986; Ouali, 1990; Negishi, 1996), y también con la degradación de la miosina (Hay y col., 1973), de la actina (Samejima y Wolfe, 1976) y con el aumento del ablandamiento de la carne (MacBride y Parrish, 1977).

Respecto a las proteínas sarcoplasmáticas, Claeys y col. (1995) encontraron un aumento de la concentración de creatin kinasa con el tiempo de almacenamiento *post mortem* de la carne de ternera y Alomirah y col. (1998) señalaron la desaparición de la banda electroforética correspondiente a 36 kDa.

### Proteolisis durante el curado

Durante la maduración del jamón, los compuestos nitrogenados experimentan fenómenos de desnaturalización y de proteolisis que dependen de la presencia de sales de curado, de la disminución de la actividad del agua, de los cambios en el pH y de las condiciones del proceso tecnológico empleado.

La proteolisis en el jamón curado inicialmente se puso de manifiesto por el incremento de la relación del nitrógeno no proteico y el nitrógeno total (NNP/NT) (Cantoni y col., 1972). Como nitrógeno no proteico (NNP) se cuantifica el procedente principalmente de péptidos, aminoácidos y otros compuestos nitrogenados de bajo peso molecular procedentes de la degradación de las

proteínas, siendo, por tanto, un indicador de la proteólisis en el músculo (Flores y col., 1984; Córdoba y col., 1994; Virgili y col., 1995). El NNP aumenta durante el curado (Ambanelli y col., 1968; Baldini y Raczynski, 1978; Flores y col., 1984; Bellati y col., 1985; Astiasarán y col., 1989; Buscailhon y col., 1994a; Córdoba y col., 1994; Hortós, 1995), llega a duplicarse la cantidad inicial presente en la carne y alcanza valores que representan un 20-25% del nitrógeno total. Para seguir la evolución del proceso resulta útil, además de la medida del porcentaje del NNP, la cuantificación de las distintas fracciones de éste: nitrógeno peptídico, nitrógeno aminoacídico y nitrógeno básico volátil.

En jamón curado de cerdo blanco, Flores y col. (1984) han descrito un importante incremento del NNP (del orden del 37%) en las primeras etapas del curado y un ligero aumento progresivo de este parámetro durante las posteriores etapas del proceso. Córdoba y col. (1994) también encontraron un incremento progresivo del NNP durante todo el curado del jamón ibérico, apreciando la aparición de valores máximos al final de las etapas de salado (4°C) y secado (18-30 °C).

En jamón curado tipo Parma se ha descrito un descenso paulatino del nitrógeno peptídico (Cantoni y col., 1972) y un aumento del nitrógeno aminoacídico, representando éste al final del proceso la mayor parte del NNP (Giolitti y col., 1971a,b).

En jamón ibérico, Timón y col. (1995) propusieron que la evolución de las distintas fracciones del NNP ocurría en dos fases: en la primera, desde la salazón hasta el inicio de la etapa de secadero, ocurre un aumento del nitrógeno peptídico debido a la proteólisis llevada a cabo por enzimas endógenas del músculo, cuya acción sobre las proteínas conlleva la aparición de fragmentos peptídicos de gran tamaño. En una segunda fase, correspondiente a las etapas de secadero y bodega donde se alcanza mayor temperatura (entre 25-30 °C), se forman aminoácidos libres a partir de los fragmentos resultantes de la ruptura inicial de las proteínas, con el consiguiente incremento del nitrógeno aminoacídico, que representa el 75% del NNP inicial.

Rodríguez-Núñez y col. (1995) observaron el aumento en el contenido de péptidos de masa molecular inferior a 2700 Da durante los primeros tres meses y medio de curado, lo que indica que tiene lugar una proteólisis intensa debida al aumento de temperatura (hasta 10 °C) y a que la  $a_w$  aún no es demasiado baja para inhibir la actividad de las enzimas proteolíticas. Encontraron que la degradación de proteínas a péptidos y de péptidos a aminoácidos tiene lugar simultáneamente y que los aminoácidos tirosina, fenilalanina y triptófano aumentan sensiblemente durante el proceso.

Aristoy y Toldrá (1991) describieron un aumento extremado de la concentración de aminoácidos en el jamón curado comparado con la carne fresca. Aparecieron aumentos prácticamente en todos los aminoácidos: ácido glutámico (543,6 vs. 4,4 mg/100 g), alanina (387,0 vs. 13,5 mg/100g), leucina (340,9 vs. 3,9 mg/100), lisina (649,3 vs. 4,6 mg/100 g), valina (253,9 vs. 3,6 mg/100 g) y ácido aspártico (252,7 vs. 0,8 mg/100 g). La conversión de nitrógeno peptídico en nitrógeno aminoacídico supone un mayor predominio de los sabores agradables de muchos de los aminoácidos libres frente a los sabores amargos característicos de ciertos péptidos (Pedersen, 1994).

La fracción de nitrógeno básico volátil (NBV) está formada por aminas y amoniaco que provienen de la descarboxilación de los aminoácidos. La formación de amoniaco no es deseable, ya que se le considera implicado en fenómenos de putrefacción.

Toldrá y col. (1992b) compararon los perfiles electroforéticos de las proteínas miofibrilares obtenidos a partir del pernil fresco y del jamón curado de cerdo blanco, y observaron una intensa proteólisis, destacando la completa desaparición de la miosina de cadena pesada y la aparición de un fragmento de 150 kDa y numerosos péptidos en la región comprendida entre 50-100 kDa. Monin y col. (1997) estudiaron la evolución de las proteínas durante diferentes etapas del curado del jamón de Bayona, encontrando una disminución progresiva de la intensidad de las bandas electroforéticas correspondientes a las proteínas sarcoplasmáticas. Así, la fosforilasa b llegó a desaparecer, mientras que la

piruvato kinasa, la enolasa, la creatin kinasa, la fosfoglicerato mutasa y la triosafofato isomerasa permanecieron visibles hasta el final del proceso. En cuanto a la fracción miofibrilar, encontraron cambios en todas las bandas electroforéticas excepto en la correspondiente a la actina, señalando las mayores modificaciones en las regiones de 220-95 kDa y 40-20 kDa, donde disminuyó la intensidad de las bandas correspondientes a la miosina de cadena pesada, a la proteína de masa molecular de 95 kDa y a las proteínas mayoritarias incluidas en la región de 40-20 kDa; la banda de 150 kDa aumentó al final del periodo de reposo (78 días de curado). Córdoba y col. (1994) realizaron un estudio similar en jamón ibérico: en la fracción sarcoplasmática observaron la desaparición de la fosforilasa b y la mioglobina, así como la disminución de la intensidad de las bandas electroforéticas correspondientes a aldolasa, creatin kinasa y fosfogliceraldehido deshidrogenasa, y en la fracción miofibrilar encontraron la desaparición progresiva de la miosina de cadena pesada, la proteína-M, la proteína-C, la  $\alpha$ -actinina, la troponina-T y la miosina de cadena ligera II, hasta su total desaparición. La disminución más marcada de estas proteínas ocurrió durante las etapas de salado (4 °C) y secado (18-30 °C) que se correspondieron con las dos etapas de máxima actividad proteolítica. La actina y la tropomiosina disminuyeron a lo largo de todo el proceso pero no llegaron a desaparecer en el producto final. Señalaron que las proteínas de mayor peso molecular (miosina de cadena pesada, proteína-M, proteína-C y  $\alpha$ -actinina) sufrieron hidrólisis e insolubilización durante las primeras etapas del curado y durante las últimas solamente experimentaron hidrólisis.

#### *Actividad enzimática durante el curado del jamón*

Las proteasas lisosomales, fundamentalmente las catepsinas B, L, H y D, una vez liberadas al citoplasma de la célula muscular, pueden hidrolizar a las proteínas miofibrilares, las cuales se encuentran parcial o totalmente desnaturalizadas por acción del NaCl. Se ha descartado la acción de las calpaínas debido a que la actividad de la  $\mu$ -calpaína disminuye rápidamente con el tiempo en el músculo *post mortem* (Koohmaraie, 1992) y no se ha detectado

actividad calpaínica después de la etapa de salazón (Sárraga y col., 1993; Rosell y Toldrá, 1996).

En jamón de cerdo blanco se ha encontrado actividad de las catepsinas B, L, H y D después de 8 meses (Toldrá y Etherington, 1988) y 15 meses de curado (Toldrá y col., 1993). Estos últimos autores observaron un descenso rápido de la actividad de las catepsinas B, B+L y H durante los dos primeros meses y una disminución más suave durante el resto del proceso. La actividad de estas enzimas al cabo de 15 meses de proceso se situó entre un 5 y un 10% de la actividad inicial medida en carne fresca. No encontraron actividad de la catepsina D después de 5 meses de curado en el músculo *Semimembranosus* y de 10 meses en el músculo *Biceps femoris*. Consideraron que las catepsinas B y L son las principales responsables de la proteólisis, ya que la catepsina H posee escasa actividad endopeptidasa y la catepsina D sólo es estable en los primeros meses del proceso.

Parreño y col. (1994) estudiaron la actividad de las catepsinas B, H y L y de su principal inhibidor, la cistatina, durante el curado del jamón de cerdo blanco en los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris*. La actividad de la catepsina B a los 4 meses de maduración fue el 84% de la actividad inicial del pernil. A los 8 meses de proceso los valores iniciales de catepsina B disminuyeron un 27% en el músculo *Semimembranosus* y un 45% en el músculo *Biceps femoris*. Señalaron la aparición de dos máximos de actividad correspondientes a las etapas de postsalado (2 meses) y de secado a temperaturas entre 16-18 °C (6 meses). También observaron que la catepsina B es más estable que la catepsina L. La actividad de la catepsina H encontrada a partir del postsalado fue inferior al 4% de la actividad inicial, manteniéndose por debajo de este valor durante el resto del proceso de maduración, de lo que se deduce la escasa participación de esta enzima en la proteólisis. La actividad de la cistatina mostró un descenso lento y progresivo durante el curado, situándose su actividad residual en el jamón curado entre un 57-40% de la inicial, dependiendo de la duración del proceso. La pérdida de actividad cistatina fue más acusada en músculo *Semimembranosus* que en *Biceps femoris*. Por último, consideraron que



durante la etapa de postsalado la catepsina L, y posiblemente las calpaínas, fueran las enzimas implicadas en la degradación de proteínas de gran tamaño, mientras que la catepsina B degradaría los polipéptidos resultantes a pequeños péptidos y aminoácidos y su acción se prolongaría durante la mayor parte del proceso de curado.

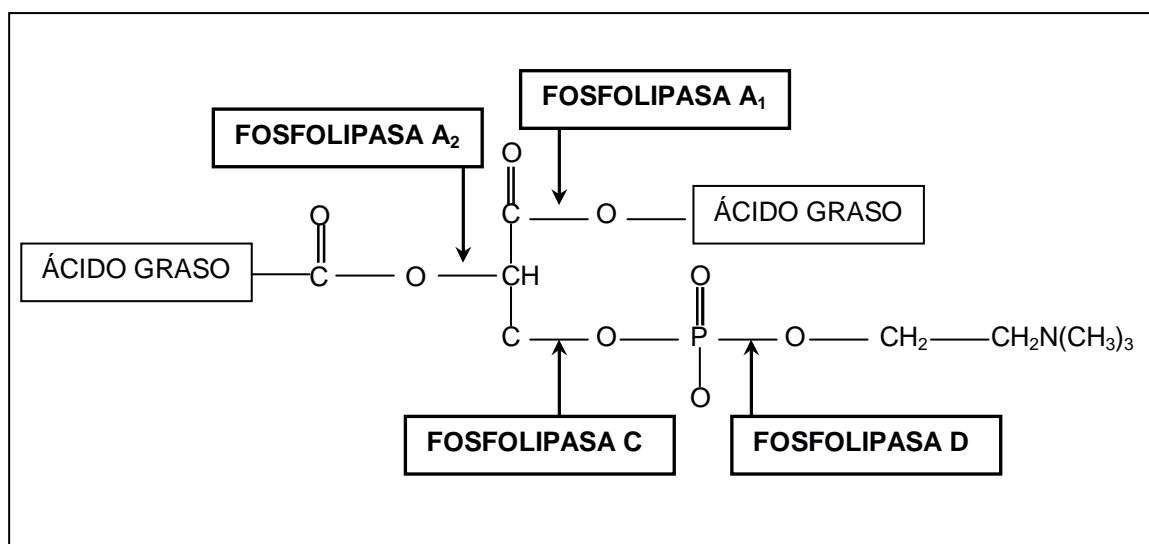
Otro grupo de enzimas musculares implicadas en la proteólisis son las exopeptidasas, responsables de la degradación de péptidos a aminoácidos. Las más importantes son: leucil, alanil, arginil, prolil, tirosil y glutamil aminopeptidasas. Son metaloproteínas de elevada masa molecular, localizadas en el citosol de la célula, que necesitan un aminoácido N-terminal para hidrolizar el péptido. Su nomenclatura indica el aminoácido enlazado al N-terminal, que necesitan para mostrar su máxima actividad. Están implicadas en la hidrólisis de proteínas y péptidos, generando una gran cantidad de aminoácidos libres. Se mantienen estables durante al menos los 7 primeros meses de proceso. La temperatura óptima de actividad de estas enzimas se sitúa entre los 37 y 45 °C, ligeramente superiores a las alcanzadas durante el estufaje, aunque también muestran importante actividad aminopeptidasa a temperaturas inferiores (10-25 °C). Se ha comprobado que permanecen activas en el intervalo de pH encontrado en el jamón curado entre 6-6,4 (Toldrá y col., 1992a).

## **Lipolisis**

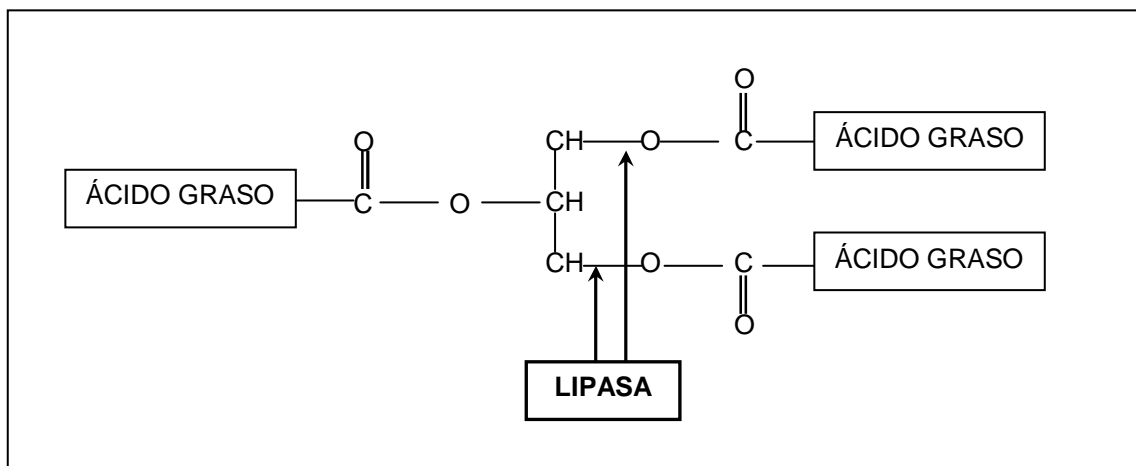
La lipolisis consiste en la hidrólisis enzimática de los lípidos musculares o del tejido adiposo liberándose ácidos grasos. Es más intensa en los primeros cinco meses de curado, Pezzani y col. (1988) la situaron principalmente durante el salado y el reposo. Flores y col. (1985b) observaron el incremento de la concentración de ácidos grasos libres a lo largo de todo el proceso (2,1-9% durante el proceso de curado lento y 15,8% durante el rápido). Berdagué y García (1990) relacionaron el desarrollo del curado en ambos tipos de procesos con el incremento del aroma y la calidad. Los compuestos carbonílicos totales fueron máximos entre el segundo y cuarto mes de curado (Flores y col., 1985b).

### Lipolisis intramuscular

Los lípidos intramusculares son un grupo de compuestos formado fundamentalmente por triglicéridos y fosfolípidos, que actúan como sustratos de las lipasas (ácida lisosomal y neutra) y fosfolipasas musculares ( $A_1$ ,  $A_2$ , C y D) (Moltiva y col., 1992). La acción de los dos grupos de enzimas provoca la generación de numerosos ácidos grasos libres, tanto saturados como mono y poliinsaturados (Moltiva y col., 1993; Buscailhon y col., 1994b) (Figura C). Estos últimos, abundantes en los fosfolípidos, son susceptibles de oxidación química o enzimática, generando numerosos compuestos volátiles precursores del aroma. Los triglicéridos son hidrolizados en las posiciones 1 y 3, pero no en la 2 por impedimentos estéricos, con lo cual se acumulan monoglicéridos que no son hidrolizados por las lipasas (Figura D). Estas enzimas mantienen su actividad hasta los 15 meses de curado, aunque la mayor liberación de los ácidos grasos tiene lugar en los primeros seis meses (Toldrá, 1998).



**Figura C** Mecanismo de actuación de las fosfolipasas musculares (Toldrá, 1998).



**Figura D** Mecanismo de actuación de las lipasas musculares y del tejido adiposo (Toldrá, 1998).

### Lipólisis en el tejido adiposo

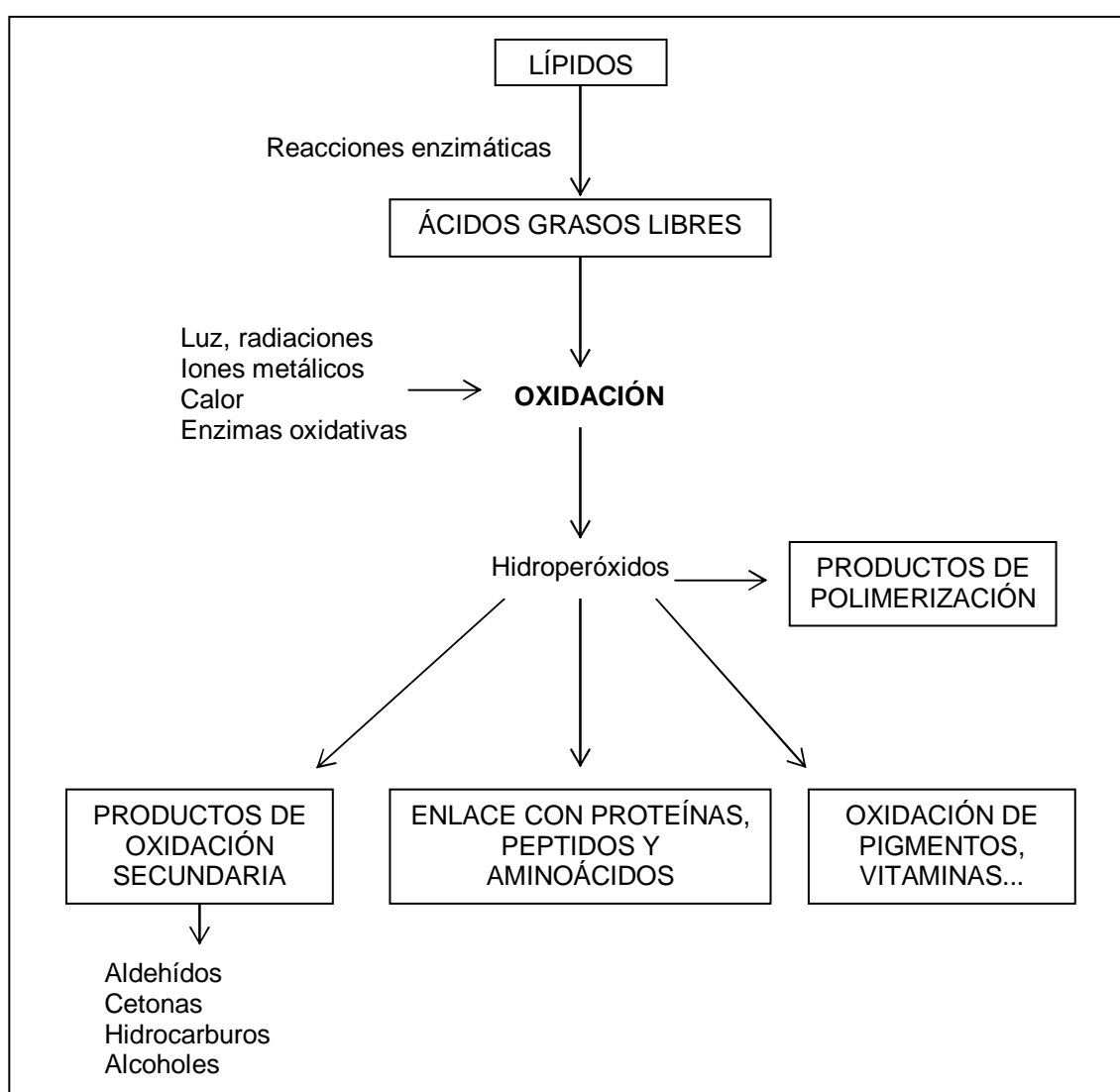
Los triglicéridos constituyen el 99% de los lípidos del tejido adiposo. La principal enzima lipolítica existente en el tejido adiposo actúa sobre los triglicéridos generando di y monogliceridos y liberando gran cantidad de ácidos grasos libres. Finalmente, los monoglicéridos también son hidrolizados a ácidos grasos libres mediante la lipasa monoglicérida. La acción principal de estas enzimas tiene lugar en los primeros 8-10 meses de curado coincidiendo con la máxima liberación de ácidos grasos como el esteárico y el oleico (Toldrá, 1998).

### **Oxidación de los lípidos**

Los lípidos intramusculares son más insaturados que los del tejido adiposo, ya que poseen mayor cantidad de fosfolípidos, por tanto constituyen mayoritariamente el origen de los compuestos volátiles, mientras que el tejido adiposo influye poco sobre el aroma de la carne.

Los ácidos grasos libres generados a partir de la hidrólisis enzimática de los lípidos son susceptibles de oxidación, la cual consta de tres etapas (Figura E):

- 1) *Iniciación*: se forman radicales libres por la acción de catalizadores como la luz, los iones metálicos, el calor y las enzimas (cicloxigenasa y lipoxigenasa).
- 2) *Propagación*: se forman hidroperóxidos muy inestables y reactivos.
- 3) *Terminación*: los hidroperóxidos reaccionan con las proteínas, los péptidos y los aminoácidos, se polimerizan o se rompen en moléculas volátiles de bajo peso molecular, que contribuyen al aroma (Buscailhon y col., 1993).



**Figura E** Esquema de las principales reacciones de oxidación de los lípidos durante el curado del jamón (Toldrá, 1998).

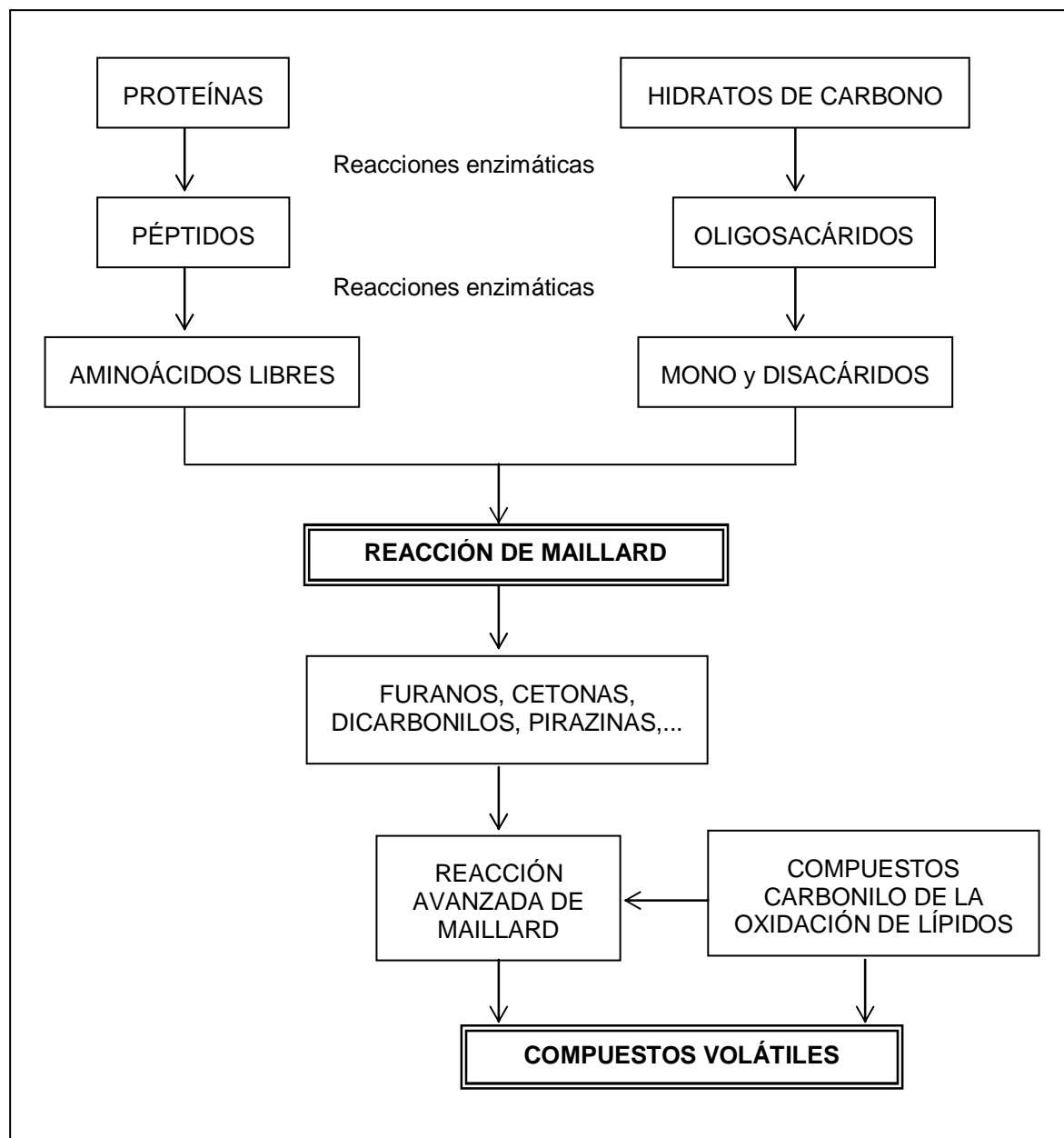
El nitrito, añadido inicialmente o procedente de la reducción del nitrato, ejerce una acción antioxidante, al contrario que el cloruro sódico, que actúa como prooxidante.

### **Reacción de Maillard**

La reacción de Maillard es una de las principales rutas de formación del aroma de la carne y de los productos cárnicos. Consiste en la reacción, en presencia de calor, de un compuesto proteico (proteína, péptido, amina o fundamentalmente, aminoácido) con un azúcar (Figura F). Se producen reacciones de condensación, deshidratación, reordenación y degradación en las que se generan furanos, furfural y derivados, aldehídos, dicarbonilos, cetonas, etc. A su vez, se pueden producir nuevas reacciones entre sí o con compuestos carbonilo de origen lipídico para generar numerosos compuestos volátiles (reacciones secundarias).

Durante el curado se alcanzan las temperaturas adecuadas y un valor de  $a_w$  lo suficientemente bajo como para que se produzca la reacción de Maillard.

El conjunto de reacciones de oxidación y de Maillard generan un gran número de compuestos volátiles que se pueden agrupar en: carbonilos (aldehídos y cetonas), furanos, ácidos grasos, pirazinas y compuestos azufrados (sulfuros, tiazoles, tioles y tiofenos) (García y col., 1991; Berdagué y col., 1991; López y col., 1992; Flores y col., 1997). Algunos, como los carbonilos, poseen mayor participación por sus características aromáticas. Otros, como los alcanos, carecen de olor. El aroma final queda determinado por el conjunto de todos los componentes volátiles.



**Figura F** Esquema de la reacción de Maillard y generación de compuestos volátiles (Toldrá, 1998).

### Reacción de Strecker

La reacción de Strecker constituye otra ruta de formación de compuestos volátiles como el 2-metilpropanal, 2-metilbutanal y 3-metilbutanal procedentes de los aminoácidos valina, isoleucina y leucina, respectivamente (Flores y col.,

1997). También se forman compuestos volátiles azufrados a partir de aminoácidos ricos en azufre como la metionina, cisteína y cistina.

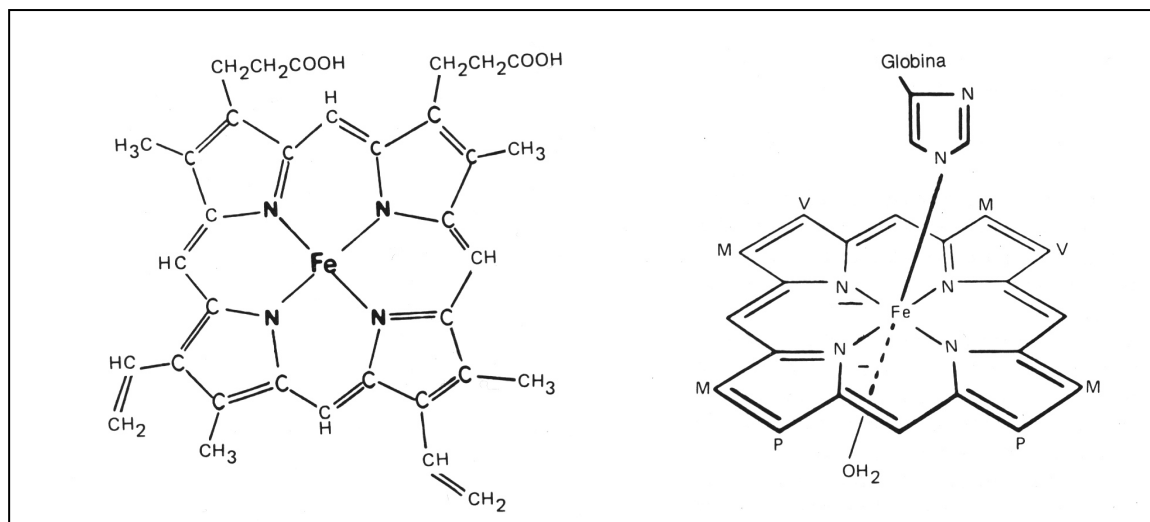
### **Formación de la nitrosomioglobina**

La química del color de la carne es la química de los pigmentos hemo, fundamentalmente de la mioglobina. El sangrado del animal, que se efectúa durante su sacrificio, elimina la mayor parte del hierro como hemoglobina y el 95% del hierro que queda forma parte de la mioglobina. La mioglobina, en sus diversas formas químicas, no es el único pigmento muscular, ni el más importante biológicamente, pero sí es el único pigmento presente en cantidades lo suficientemente grandes para colorear la carne (comprende el 50-80% de los pigmentos cárnicos originados en el músculo). Otros pigmentos musculares, con funciones importantes en el músculo vivo, pero que no contribuyen nada o casi nada al color total de la sangre, son los citocromos (pigmentos hemo rojos que contienen hierro en una estructura porfirina-proteína), la vitamina B<sub>12</sub> (contiene el mismo anillo porfirina que el grupo hemo y los citocromos, pero posee un átomo de cobalto en lugar de hierro), las flavinas (coenzimas amarillos que participan con los citocromos en el transporte de electrones en las células) y la hemoglobina.

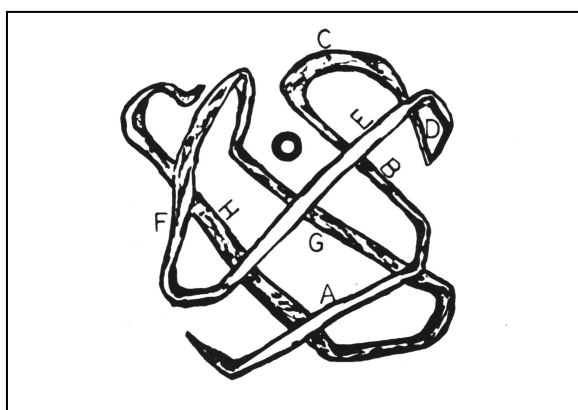
La mioglobina forma parte de las proteínas sarcoplasmáticas del músculo. Su función es almacenar temporalmente el oxígeno transportado por la hemoglobina de la sangre hasta que es utilizado por las enzimas respiratorias mitocondriales y facilita el transporte de oxígeno dentro de la célula muscular.

La mioglobina es una proteína compleja formada por una porción proteica denominada globina y otra prostética, el grupo hemo, que consta de dos partes: un átomo de hierro y un anillo planar, la porfirina, que a su vez está formada por cuatro núcleos pirrólicos unidos entre sí mediante puentes meteno (Figura G). Su cadena polipeptídica consta de una secuencia de unos 150 aminoácidos perfectamente identificados en más de 50 especies (Romero-Herrera y col., 1978). El polipéptido globina consiste en ocho segmentos  $\alpha$ -helicoidales que se pliegan alrededor del hierro del grupo hemo hidrofóbico, orientado de tal forma

que los grupos vinilo quedan en el interior hidrofóbico y los grupos de ácido propiónico hacia la superficie de la molécula (Figura H). La función de la globina es conferir solubilidad en agua a la molécula de mioglobina a pesar del grupo hemo hidrofóbico y proteger al átomo de hierro de la oxidación.



**Figura G** Estructura química del grupo hemo y de la molécula de mioglobina.



**Figura H** Estructura de la molécula de mioglobina.



La capacidad de absorción de la luz visible de la mioglobina se debe a la estructura resonante de los dobles enlaces conjugados del grupo hemo.

El hierro en estado ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ) puede aceptar seis electrones en su orbital más externo pudiendo formar seis enlaces covalentes de coordinación, cuatro con los grupos pirrólicos del anillo de porfirina y uno con el resto de histidina con el que se une la molécula de globina. En el sexto lugar de coordinación pueden unirse donadores neutros de un par de electrones, tales como el oxígeno molecular ( $\text{O}_2$ ), el óxido nítrico ( $\text{NO}$ ) y el monóxido de carbono ( $\text{CO}$ ), dando lugar a la oximioglobina, la nitrosomioglobina y la carboximioglobina, respectivamente. Estos complejos covalentes ferrosos son los responsables del color rojo brillante deseado para la carne. La oxidación del átomo de hierro a su forma férrica ( $\text{Fe}^{3+}$ ) da lugar a la metamioglobina, la cual es incapaz de unir oxígeno y es fisiológicamente inactiva. En la molécula de metamioglobina el grupo hemo adquiere una carga positiva y une ligandos cargados negativamente, como el fluoruro ( $\text{F}^-$ ), el nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) y el cianuro ( $\text{CN}^-$ ). Estos ligandos varían en su capacidad de donar pares de electrones y por ello producen pigmentos con distinta intensidad de rojo. El nitrito es un donador débil y da lugar a un pigmento pardo rojizo, en el que el hierro hemínico y el ligando retienen gran parte de sus cargas originales formando un enlace iónico. Los iones fluoruro y cianuro son fuertes donadores de electrones y forman complejos estables con el hemo. Si la proteína se desnaturaliza y el hierro se oxida, el pigmento pierde su capacidad de formar enlaces fuertes y se torna pardo, excepto en el caso de la unión de óxido nítrico, el cual dona electrones fácilmente y forma complejos coordinados fuertes con el hierro hemínico, independientemente del estado de oxidación o de la estructura proteica.

Todas estas estructuras dependen de que el anillo de la porfirina permanezca intacto. Si este anillo es sustituido o roto, generalmente a nivel de un puente de meteno entre los pirroles, el pigmento se torna verde. La sustitución puede hacerse con sulfuros o con ácido nitroso. Los pigmentos verdes con anillos rotos se forman como resultado de una oxidación controlada por el oxígeno o los peróxidos en presencia de reductores. Por ejemplo, el peróxido o el oxígeno en

presencia de ascorbato produce coeglobina, un compuesto con el anillo hemínico roto. La ruptura por medio de altas concentraciones de oxidantes abre la estructura del hemo para dar lugar a tetrapirroles amarillos (pigmentos biliares) (Fox, 1994).

En el tejido vivo, los únicos factores que gobiernan la funcionalidad de la mioglobina son el estado de oxidación del hierro, la presión parcial de oxígeno y las ligeras modificaciones del pH. En la carne actúan otras fuerzas sobre los pigmentos hemo, introduciendo cambios en los factores estructurales que afectan al color de los pigmentos. Los cuatro agentes principales aparecen en la Tabla G.

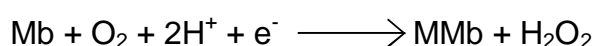
**Tabla G** Factores que afectan a las funciones de la mioglobina.

	Color
Estado de oxidación del hierro	
Fe <sup>2+</sup>	Rojo o púrpura
Fe <sup>3+</sup>	Rojo o pardo
Ligandos	
Ninguno (sólo Fe <sup>2+</sup> )	Púrpura
Fuerte (covalente coordinado)	Rojo
Débil (iónico)	Rojo-pardo
Estado físico de la proteína	
Nativo	Rojo, púrpura o pardo
Desnaturalizado	Rosa o pardo
Integridad del anillo porfirínico	
Intacto	Rojo, púrpura o pardo
Sustituido	Verde
Roto	Verde, pardo o amarillo

La concentración de mioglobina en el músculo depende de varios factores como la especie, la raza, la edad, el ejercicio, el tipo de fibra muscular y la localización anatómica del músculo.

### El ciclo de color de las carnes frescas

El ciclo de color de las carnes frescas es reversible y dinámico, con tres pigmentos: mioglobina, oximioglobina y metamioglobina interconvirtiéndose constantemente. La oximioglobina (MbO<sub>2</sub>) es el pigmento rojo brillante que confiere el “bloom” a las carnes frescas cuando se exponen al aire. Este fenómeno ocurre en un tiempo inferior a 30 min acelerándose si la temperatura es baja. Cuando el oxígeno penetra en el tejido muscular se produce un consumo del mismo ya que oxida a sustancias reducidas, principalmente coenzimas. El resultado es un gradiente de oxígeno desde la saturación en la superficie hasta cero a pocos centímetros. El espesor de la capa de oxígeno varía según la concentración de sustancias reducidas, la actividad enzimática, el pH y la temperatura. El interior de la carne permanece con el color rojo púrpura del pigmento no oxigenado, la mioglobina (Mb). Entre la capa externa roja y la interna púrpura existe generalmente una película parda de pigmento con el hierro en estado oxidado, la metamioglobina (MMb). Esto ocurre debido a que la oxidación de la mioglobina se ve favorecida frente a la oxigenación a presiones parciales de oxígeno bajas. La película parda aparece en el límite de difusión del oxígeno dentro de la carne, en el que las concentraciones de mioglobina y oximioglobina son aproximadamente iguales. La ecuación de oxidación es:



El átomo de hierro de la mioglobina dona un electrón al oxígeno. Un segundo electrón es donado por sustancias reductoras inherentes al tejido muscular. La desoxigenación de la MbO<sub>2</sub> constituye un paso intermedio. La MbO<sub>2</sub> no participa en las reacciones de transferencia de electrones.

En la carne fresca pueden ocurrir decoloraciones debidas a factores intrínsecos entre las que destacan:

- El color pardo que se desarrolla cuando la presión parcial de oxígeno se reduce.

- El color pálido del músculo PSE o el color oscuro del DFD.
- Las manchas oscuras diseminadas en la superficie de la carne debidas a una rotura capilar provocada por un estrés extremo antes del sacrificio, lo cual aumenta suficientemente la presión sanguínea como para romper la pared de los capilares.

También existen factores externos que inducen decoloraciones en la carne:

- Los iones metálicos que catalizan la oxidación de oximioglobina a metamioglobina.
- El crecimiento de microorganismos y hongos, que pueden decolorar la carne fresca de cuatro formas diferentes: modificando el entorno fisiológico de los pigmentos, produciendo sustancias que reaccionan con los pigmentos hemo, metabolizando la globina y produciendo pigmentos propios.
- La sal, que facilita la oxidación del grupo hemo causando su pardeamiento, ya que disminuye la solubilidad del oxígeno en fase acuosa, facilitando la oxidación de Fe(II) a Fe (III); desnaturaliza enzimas, deteniendo la glucólisis y la producción de sustancias reductoras endógenas; incrementa la capacidad de retención de agua de las proteínas, lo que provoca que los tejidos sean más permeables a la luz y más oscuros.
- La luz, que causa la disociación del oxígeno del hemo en la oximioglobina.
- Algunos gases, los cuales disminuyen la presión parcial de oxígeno y causan el pardeamiento de la carne.
- Colorantes.
- Fenómenos físicos, entre los que destaca el dicroísmo y el metamerismo que consiste en que dos pigmentos que tienen un mismo color bajo unas condiciones de luz, manifiestan colores distintos en otras, ya que poseen diferentes espectros de absorción.

### El color de la carne curada

La formación del pigmento típico que da color a las carnes curadas, transcurre de la siguiente forma:

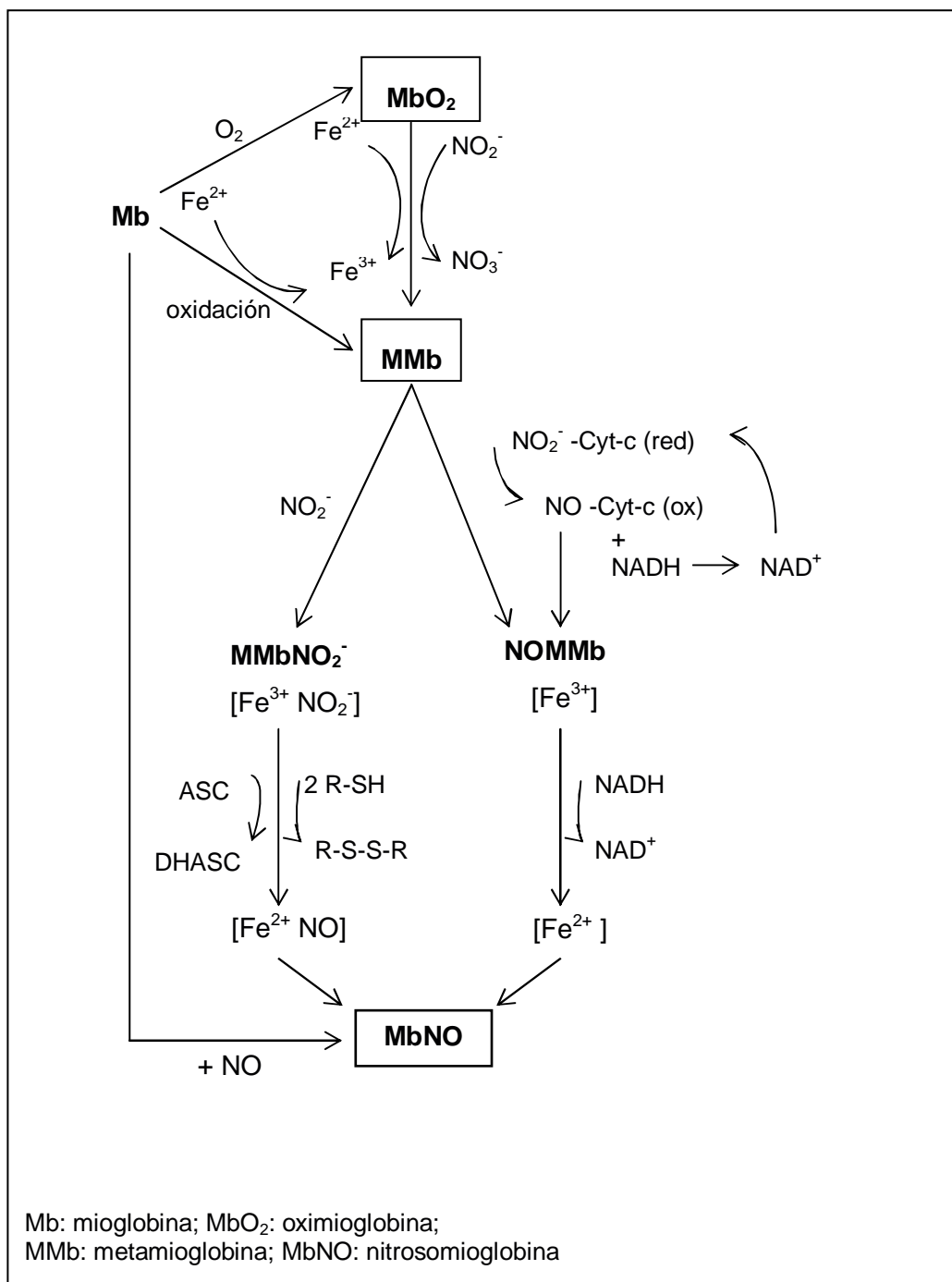
- 1) Reducción de los nitratos a nitritos fundamentalmente por acción bacteriana y de éstos a óxido nítrico (NO).
- 2) Oxidación de la mioglobina y la oximioglobina a metamioglobina.
- 3) Reacción de la metamioglobina con el óxido nítrico para formar nitrosomioglobina.

En la Figura I aparece un esquema de los posibles mecanismos de formación de nitrosomioglobina (Möhler, 1980).

En el tejido muscular existen compuestos endógenos capaces de reducir el nitrito a óxido nítrico, tales como cisteína, nicotinamín-adenín-dinucleótido reducido ( $\text{NADH}^+$ ), citocromos y quinonas. Se encuentran en mayor cantidad que los pigmentos hemo y los nitritos añadidos, por lo que la velocidad de reducción de éstos es lo suficientemente alta como para producir el color de la carne curada. Puede ocurrir una pérdida parcial de estas sustancias reductoras por oxidación, por lo que se suele añadir ascorbato sódico (vitamina C) o isoascorbato sódico, para acelerar el desarrollo del color del curado.

La reducción de nitrito a óxido nítrico es una reacción de transferencia de electrones que requiere un reductor (donador de un electrón) o la formación de un intermediario semiestable reductor del nitrito. Los citocromos son ejemplos del primer tipo y se han propuesto como intermediarios catalíticos en la formación del pigmento de la carne curada. El segundo tipo incluye a la cisteína, al ascorbato y a las quinonas, y conduce a la formación de intermediarios reductores del nitrito que pueden sufrir una serie de reacciones posteriores además de la formación de óxido nítrico. El óxido nítrico puede ser oxidado por el oxígeno a dióxido de

nitrógeno ( $\text{NO}_2$ ), que en medio acuoso se transforma en nitrito y nitrato formando un sistema cíclico.



**Figura I** Mecanismos de formación de la nitrosomioglobina (Möler, 1980).

Hay aditivos o condiciones que influyen en la reducción del nitrito a óxido nítrico. Así, la adición de sal acelera la reacción debido a la formación de nitrosil cloruro (NOCl), que es una especie nitrosante mucho más poderosa que el trióxido de dinitrógeno ( $N_2O_3$ ) formado a partir del ácido nitroso. Los fosfatos también pueden catalizar la reacción de reducción del nitrito. Además, las formas reactivas de las especies nitrosantes ( $N_2O_3$ , NOCl) han de estar en forma protonada y por ello cuanto más bajo sea el pH más favorecida está la reacción de reducción. Por esta razón se han recomendado acidulantes (tales como la glucono-delta-lactona) para ayudar en el desarrollo del color de las carnes curadas. La adición de bacterias ácido-lácticas también acelera la producción de óxido nítrico, al disminuir el pH y crear además una atmósfera reductora. No obstante, es discutible si la formación del color de curado requiere una aceleración mayor que la proporcionada por el ascorbato/isoascorbato, ya que se ha demostrado que el desarrollo del color de curado es completo tras el procesado normal.

Los antioxidantes también favorecen el desarrollo del color. Al ser reductores deberían ser capaces de reducir el nitrito a óxido nítrico, pero su reactividad es demasiado baja para ser significativos en la producción directa de óxido nítrico, siendo su efecto el de mantener baja la concentración de sustancias oxidantes.

En la Figura J se resumen los diferentes posibles mecanismos de formación de óxido nítrico desde el nitrito añadido a los productos cárnicos (Töth, 1983).

El color de las carnes curadas depende de tres factores: la concentración de pigmentos en los tejidos, el grado de conversión del pigmento nitrosilado y el estado de las proteínas de la carne. Así, en los productos fermentados de vacuno, el color es rojo oscuro intenso debido en parte a la alta concentración de pigmento en los tejidos y también a que las proteínas tisulares permanecen en su mayoría sin desnaturalizar y la estructura celular es relativamente translúcida, de modo que la luz penetra profundamente en los tejidos. Por el contrario, en el

pernil de cerdo la concentración de pigmentos es mucho menor y una mayor proporción de proteínas están desnaturalizadas, por lo que reflejan más luz y la carne resulta de color rosa pálido. La conversión de los pigmentos en su forma nitrosilhemocromo es importante para la formación de color, siendo normales valores del 60-80%. Conversiones menores del 50% producen un color pardusco, mientras que mayores del 80% dan un color rojo azulado.

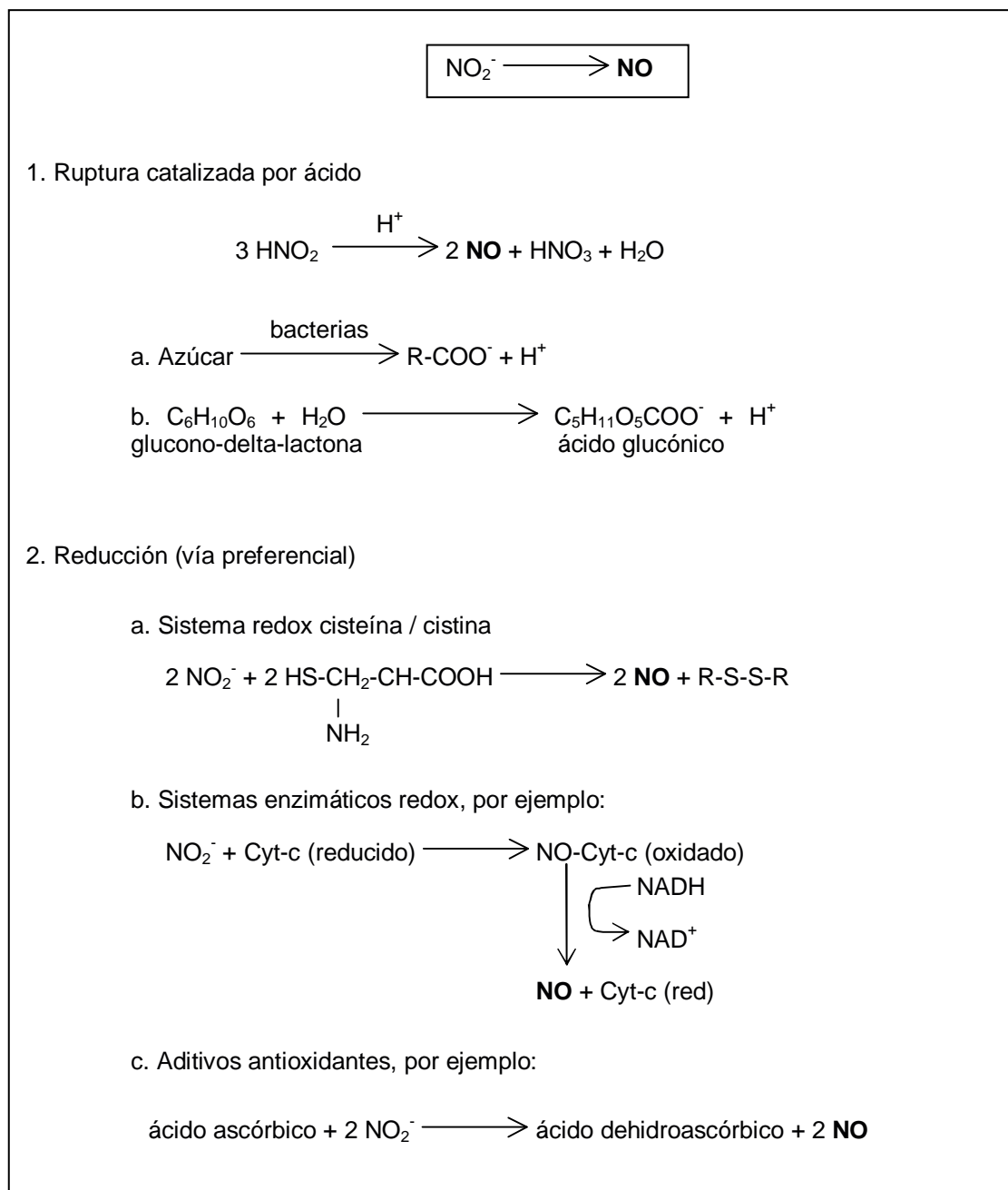
La estructura del pigmento de la carne curada depende del estado de la proteína. Si el complejo se forma con el pigmento nativo, el grupo hemo une una molécula de óxido nítrico, aunque al hacerlo debilita el enlace entre el hemo y la globina. Cuando esta proteína está desnaturalizada, por ejemplo, por calentamiento, el hemo queda libre y toma una segunda molécula de óxido nítrico, formando el complejo dinitrosilhemocromo.

La nitrosomioglobina es una molécula muy estable. Cuando el grupo hemo y el ligando se disocian, como ocurre bajo iluminación, el óxido nítrico queda sensibilizado a la oxidación. Si no hay oxígeno, el pigmento rosa se vuelve a formar. Si existe una reserva de reductores, el nitrito formado por oxidación y dismutación revierte a óxido nítrico, y el pigmento se vuelve a formar. Sin embargo, si la carne es vieja la reducción no tiene lugar y la carne se torna parda. Las bacterias también pueden oxidar los pigmentos hemo de las carnes curadas. Así pues, el pigmento en las carnes curadas es por tanto un indicador de deterioro bioquímico o bacteriano.

La decoloración en las carnes curadas puede producirse por causas químicas, físicas y microbiológicas.

Las decoloraciones químicas más frecuentes provienen de la carencia o del exceso de nitrito en el salado, dando lugar coloraciones pardas (metamioglobina) o verdosas (nitritometamioglobina), respectivamente.





**Figura J** Posibles mecanismos de formación de óxido nítrico a partir de nitrito en productos cárnicos (Töth, 1983).

La decoloración por causa física se refiere al efecto ejercido por la luz. La decoloración de la superficie de las carnes curadas procede muy lentamente cuando son expuestas al aire debido a la estabilidad de la nitrosomioglobina. Sin embargo, cuando la superficie es iluminada, la decoloración ocurre rápidamente,

lo que se evita si se envasa la carne con una película impermeable al oxígeno. La disociación inducida por la luz es la misma bajo ambas condiciones, pero al no haber oxígeno el óxido nítrico disociado no se oxida e instantáneamente revierte al color rojo del nitrosilhemopigmento.

Las decoloraciones bacterianas son procesos oxidativos que producen pigmentos pardos o verdes. La mayoría de las bacterias son catalasa negativa y provocan la acumulación de peróxido de hidrógeno, por lo que la adición de catalasa para reducir el peróxido de hidrógeno puede frenar la decoloración bacteriana. Tales bacterias enverdecedoras son más frecuentes en embutidos ácidos o fermentados, ya que el peróxido produce pigmentos verdes a pH bajo (hidroperoximetamioglobina). Las bacterias productoras de sulfuro también pueden causar el enverdecimiento de los embutidos curados debido a la formación de sulfomioglobina. Si la oxidación es lo suficientemente intensa, la ruptura del anillo de porfirina producirá colomioglobina, un pigmento verde desagradable, seguido de la descomposición de la estructura del hemo, con la formación de di- y tetrapirroles, dando lugar a pigmentos amarillos y pardos.

No sólo la nitrosilmioglobina es responsable del color del magro, en productos en los que no se emplean sales nitrificantes como en el jamón de Parma, el magro adquiere también un color rojo característico (Chizzolini y col., 1993b), que se ha relacionado con un compuesto originado a partir de la molécula de mioglobina reducida, en la que la molécula de agua unida al átomo de hierro es sustituida por un ligando nucleofílico de la propia mioglobina, que podría ser un residuo aminoacídico básico de la globina, mientras que la molécula de agua se perdería por deshidratación (Parolari y col., 1983).

## **JUSTIFICACIÓN**

Durante las últimas décadas el sector productor de ganado porcino ha experimentado cambios importantes: ha disminuido el número de granjas pero se ha incrementado la capacidad de las mismas, lo que ha provocado un cambio en las instalaciones y en el manejo de los animales; se han sacrificado machos sin castrar y se han introducido nuevas líneas genéticas seleccionadas en contra del engrasamiento, debido a la implantación de sistemas de pago que premian las canales magras.

En nuestro país el peso medio de las canales en 1965 era de 91 kg, el cual se redujo a razón de 0,8 kg/año hasta 1985, llegando a un peso de la canal de 74,2 kg. Esta reducción en el peso al sacrificio obedeció a la reducción del engrasamiento. Desde 1987 el peso de la canal ha aumentado 0,5 kg/año sin que se produjera un aumento de su grasa. En una muestra representativa tomada en 1987, el espesor de la grasa dorsal fue de 17,4 mm con un peso de canal de 74,4 kg, mientras que en 1995 el espesor de la grasa dorsal fue de 15,4 mm correspondiéndose con un peso de canal de 78,3 kg. Esta situación también tiene lugar en otros países en los que se observa un aumento del peso de las canales de aproximadamente 0,5 kg/año y, paralelamente, una disminución de 0,3 mm del espesor de la grasa dorsal (García-Macías y col., 1996).

El resultado de lo expuesto anteriormente es la escasez de cerdos con el engrasamiento y el peso adecuados para utilizarse como materia prima en la fabricación de productos curados.

Para la elaboración de jamón curado de calidad se precisa una cierta cantidad de grasa infiltrada que regule la deshidratación. En los jamones muy magros, ésta tiene lugar muy rápidamente, produciéndose con frecuencia problemas de acortezamiento que ocasionan defectos de textura, aroma y sabor. Por otro lado, los perniles muy conformados no deberían ser utilizados para la fabricación de jamón curado, ya que en ellos la distancia a recorrer por la sal

hacia el interior y del agua en sentido contrario es elevada, lo que favorece los fenómenos de proteolisis ocasionando una mayor presencia de pintas blancas, de velo blanco y de textura pastosa, que provocan rechazo por parte de los consumidores (Arnau y col., 1992).

Los problemas de desgarros en la articulación coxofemoral son más frecuentes en los cerdos conformados y magros debido a la mayor velocidad de deshidratación superficial y a la menor resistencia de la articulación coxofemoral a las tensiones de secado (Arnau y col., 1992). Así pues, es recomendable agrupar los jamones por peso, cantidad de grasa y conformación para tener una materia prima de partida lo más uniforme posible (Arnau, 1993).

Un aspecto importante en la producción porcina intensiva ha sido el uso de líneas genéticamente sensibles al estrés, las cuales ofrecen ventajas en la calidad de la canal: las canales son más conformadas, tienen menor porcentaje de grasa, de hueso y mayor de carne magra, además, sus piezas están más valoradas por presentar una mejor distribución del tejido muscular. Sin embargo, el gen del halotano está relacionado con una mayor incidencia en la aparición de casos del síndrome del estrés porcino (predisposición a morir por paro cardíaco) y el desarrollo de carnes pálidas, blandas y exudativas (PSE). La presencia del gen del halotano junto con el tratamiento inadecuado de los animales antes del sacrificio, causa graves pérdidas económicas durante el procesado y en la venta de la carne fresca de cerdo, ya que influye negativamente en la apreciación visual de la carne, afecta a la terneza y a la calidad tecnológica de los productos cárnicos. La carne PSE constituye el mayor problema de la industria cárnica en España (Oliver y col., 1988; García-Macías y col., 1996).

Por otro lado, el veteado de los músculos o su contenido en grasa intramuscular es un criterio de calidad cada vez más utilizado. La selección en contra del engrasamiento en la especie porcina ha llevado a una disminución en algunos casos del porcentaje de grasa intramuscular, llegando a ser inferior al 1%. Este cambio produce una pérdida de la calidad sensorial, fundamentalmente

por falta de jugosidad y terneza de la carne fresca (Bejerholm y Barton-Gade, 1986).

Varios estudios han demostrado que los cruces genéticos procedentes de la raza Duroc tienen mayor porcentaje de grasa intramuscular (Barton-Gade, 1987; McGloughlin y col., 1988; Wood y col., 1988; Edwards y col., 1992; Meat and Livestock Commission, 1992; Oliver y col., 1994). La Meat and Livestock Commission (1992) comparó varios cruces genéticos con sangre Duroc y encontró que el contenido de grasa intramuscular aumentaba, siendo de 0,70% en los controles; 0,86% con 25% de Duroc; 1,08% con 50% de Duroc y hasta 1,27% con 75% de Duroc. Por otro lado, las líneas con sangre Duroc tienen una mayor concentración de fibras musculares oxidativas rojas y contienen más depósitos de lípidos, asociados a una mayor calidad sensorial. Según el estudio de la Meat and Livestock Commission (1992), la concentración de pigmentos musculares aumenta a medida que lo hace la proporción de sangre Duroc de los animales y, por tanto, la carne se hace más roja.

La utilización de cruces genéticos con sangre Duroc debe, por tanto, proporcionar materia prima de buena calidad para la elaboración de jamón curado. Guerrero y col. (1996) compararon la raza Duroc con un cruce obtenido a partir de dos razas conformadas: Pietrain x Landrace Belga y otro cruce: Duroc x Large White. Encontraron que los jamones pertenecientes a los animales de la raza Duroc, después de nueve meses de curado, presentaron más veteado, más aroma y sabor a curado y las mermas de procesado fueron inferiores. Sin embargo, los jamones procedentes de los animales de la línea conformada presentaron mayor pastosidad y más cristales de tirosina, debido a una degradación proteica muy intensa. Los autores concluyeron que la línea conformada fue la menos apropiada para la producción de jamón curado.

En este contexto, la calidad de los productos curados se ve claramente correlacionada con los niveles de engrasamiento y fundamentalmente con la cantidad de grasa infiltrada, que aporta ventajas, tanto tecnológicas como sensoriales. Por tanto, resulta deseable la obtención de animales que produzcan

canales con las características mencionadas y ello sólo es posible integrando bajo este objetivo a todos los eslabones de la cadena productiva: sector productor - sector transformador.

## **OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO**

Los objetivos planteados en esta memoria son:

- 1.- Determinar si dos cruces genéticos procedentes de dos empresas de genética diferentes, incluyendo ambos la misma proporción de sangre Duroc (75%), proporcionan jamones de calidad similar.
- 2.- Determinar si un 25% de variación en la proporción de sangre Duroc ocasiona diferencias en la calidad de la canal, de la carne y del jamón curado.
- 3.- Seleccionar de los tres cruces genéticos derivados de la raza Duroc, el que proporcione los mejores parámetros productivos, el mayor rendimiento de la canal y la mejor calidad de los jamones.

El plan de trabajo consistió en:

- 1.- Caracterizar los tres cruces genéticos en cuanto a:
  - parámetros productivos,
  - calidad de la canal y
  - características fisico-químicas de los pernils.
- 2.- Aplicar y controlar la tecnología de curado propia de la empresa Grupo Navidul S.A.
- 3.- Analizar los jamones curados de los tres cruces genéticos estudiados.
- 4.- Conocer los cambios experimentados por las proteínas miofibrilares y sarcoplasmáticas como consecuencia de los fenómenos proteolíticos ocurridos durante el curado.

**5.-** Formar y entrenar a un panel de cata especializado en el análisis sensorial del jamón curado en la Empresa.

**6.-** Analizar las características organolépticas de los jamones curados de los tres cruces genéticos mediante el panel previamente entrenado.

**7.-** Tratar los datos obtenidos mediante diferentes técnicas estadísticas.



## **CAPÍTULO 1: MATERIAL Y DESCRIPCIÓN DE LA METODOLOGÍA**

### **1.0 INTRODUCCIÓN**

La genética es uno de los parámetros que influyen en la calidad de la carne y que condiciona el desarrollo del curado.

En esta memoria se ha estudiado la influencia de la genética sobre los parámetros productivos y sobre la aptitud de los perniles obtenidos para la fabricación de jamón curado.

Para caracterizar la materia prima y el producto elaborado se determinaron: el pH, la conductividad eléctrica, la humedad, la grasa, la proteína y las sales, que aportan una información básica del producto; la cantidad de mioglobina en el pernil y de nitrosopigmentos y pigmentos totales en el jamón una vez curado, como medidas del color; la actividad enzimática, el nitrógeno no proteico, la estructura y la cantidad relativa de las proteínas mediante electroforesis en gel de poliacrilamida desnaturalizante (SDS-PAGE), con objeto de conocer el desarrollo de la proteolisis; y la textura de forma instrumental como medida de las características reológicas.

### **1.1 MUESTRAS**

Se seleccionaron del mercado europeo tres líneas genéticas de machos de cerdo blanco con un determinado porcentaje de sangre Duroc (DU) y se cruzaron con hembras Duroc x Landrace (LD), caracterizadas por proporcionar animales con elevada cantidad de grasa intramuscular y alta productividad.

Las tres líneas de machos seleccionadas fueron las siguientes:

- Duroc procedente de una empresa de genética de Inglaterra
- Duroc x Large White (LW) de una empresa de genética de Holanda
- Duroc de una empresa de genética española

y los animales resultantes de los tres cruces genéticos fueron:

- Genética A: ♂ DU x ♀ (DU x LD), (75% de sangre DU y 25% de sangre LD)
- Genética B: ♂ (DU x LW) x ♀ (DU x LD), (50% DU, 25% LD y 25% LW)
- Genética C: ♂ DU x ♀ (DU x LD), (75% DU y 25% LD).

### **Control en la fase de cebo**

Todos los animales fueron alimentados con el mismo tipo de pienso.

Se controló individualmente el peso de cada animal durante la fase de cebo: al comienzo de la misma, a la mitad (125-130 días de vida) y a su término, así como su consumo de pienso. Se calculó la ganancia media diaria (GMD) y el índice de conversión (IC) por individuo, y el consumo medio diario (CMD) por lote. Estos parámetros se definen como:

- Ganancia media diaria (GMD): es el aumento medio de peso por día cada mes de cebo.
- Índice de conversión (IC): es la relación entre el consumo de pienso total y el peso adquirido durante el periodo de engorde.
- Consumo medio diario (CMD): es la cantidad ingerida de pienso por día y por cuadras. La medida se realizó con periodicidad semanal.

## Control durante el sacrificio

Se sacrificaron 894 animales con un peso medio de 111kg y seis meses de vida, de los cuales 304 correspondieron a la genética A, 289 a la genética B y 301 a la genética C. Los sacrificios se realizaron a lo largo de 5 meses.

Las cargas de los animales al camión que los transportaba al matadero se realizaron entre las 7:00 y 8:00 h. Una vez efectuada la descarga, los cerdos se ducharon durante 15 min. El tiempo de reposo en el matadero antes del sacrificio fue de 1,5 a 2 h. Antes de la matanza se volvieron a duchar durante 10 min. El sacrificio se efectuó con un aturdimiento previo mediante la aplicación de una descarga eléctrica con pinzas, seguidamente se degollaron y se colgaron para su desangrado.

En el matadero se midieron los diferentes parámetros de calidad de la canal y de la carne:

- El rendimiento, la conformación y el espesor de la grasa dorsal medida a nivel de las vértebras sacras de la canal. El rendimiento es el cociente entre el peso de la canal después de oreo (enfriamiento rápido de la canal durante aproximadamente 16 h hasta que alcanza una temperatura de 7 °C) y el peso en vivo del animal un día antes del sacrificio al que se le ha restado un factor de 2,5 (valor estandarizado correspondiente a la pérdida de peso media que experimenta el animal durante su transporte desde la granja al matadero); el resultado se multiplica por 100. La conformación y el espesor de la grasa dorsal fueron medidas subjetivamente por un experto.
- El pH y la conductividad eléctrica en el músculo *Semimembranosus* de los perniles (apartado 1.2.1).
- Los escandallos (despiece de la canal) de cada uno de los ejemplares de los distintos cruces genéticos para determinar las características en cuanto a la producción ganadera a nivel de matadero y sala de despiece.

Los perniles se mantuvieron a 4 °C hasta su llegada a fábrica.

### **Control de los perniles a su llegada a fábrica**

Se midió el espesor de la grasa de depósito de todos los perniles desde el magro hasta la superficie del jamón a nivel del músculo *Biceps femoris*, se recortó su piel en forma de V y se pesaron antes de comenzar su periodo de salazón. Para realizar el estudio se seleccionaron los 586 perniles que tenían un espesor de grasa de depósito superior a 2 cm.

### **Control del curado**

Los jamones se procesaron a los 5 días *post mortem*. Transcurrido este periodo, el ablandamiento de la carne del cerdo es del 80% a temperaturas de refrigeración (Etherington y col., 1987).

Todos los jamones siguieron el mismo proceso de curado propio de la empresa Navidul S.A., consistente en tres etapas principales:

- *Salado*: una vez desangrada totalmente la vena femoral y prensada la pieza mecánicamente, se frotó la superficie del pernil con 100 g de la mezcla de sal y agente nitrificante. Los perniles se apilaron en recipientes de acero inoxidable. Se mantuvieron a la temperatura de 1-3 °C durante un periodo de 0,9 día/kg de jamón.

- *Reposo*: después del salado los perniles se lavaron para eliminar el exceso de sal exterior. Durante un mes y medio la temperatura se mantuvo a 3-4 °C, la humedad relativa osciló entre 70-80%. Las condiciones de esta etapa aseguraron que el jamón no se encostrara, debido a un secado excesivo, ni se formara remelo en su superficie, debido a la excesiva humedad superficial.

- *Secado-maduración*: la temperatura se fue incrementando en etapas (3, 8 y 18 °C) y la humedad relativa del secadero fue disminuyendo, desde 80 hasta

70%, durante cinco meses. Al final de esta etapa, y durante dos meses y medio, se sometieron a la fase denominada *estufaje*, con una temperatura de 30-33 °C y una humedad relativa de 75-80%.

Después del estufaje los jamones pasaron a la etapa de *afinado en bodega*, en la que se mantuvieron a una temperatura de 13-17 °C y humedad relativa de 75% durante 2 meses.

### **Muestras analizadas**

Se analizaron los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris* de:

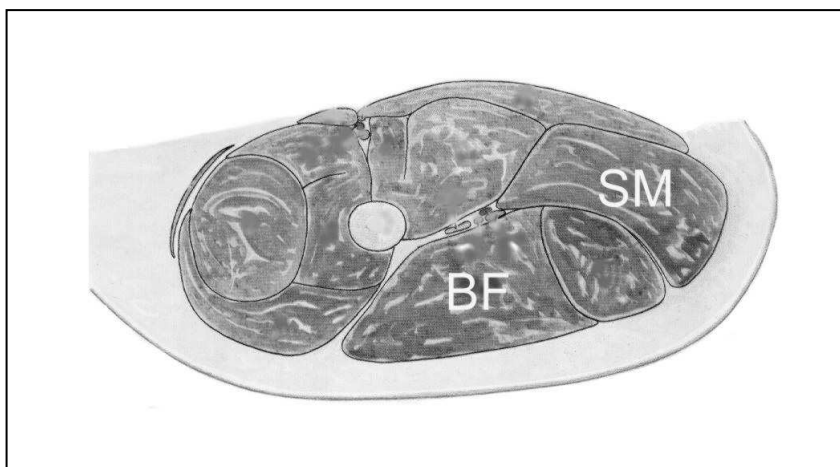
- (a) Perniles frescos: 17 de la genética A, 23 de la genética B y 20 de la genética C.
- (b) Jamones curados: 25 de la genética A, 34 de la genética B y 34 de la genética C.

En las muestras de los pernils frescos (a) se realizaron las determinaciones analíticas descritas en los apartados 1.2.1, 1.2.5, 1.3.1 y 1.4.1. La electroforesis en gel de poliacrilamida (apartado 1.4.3) se realizó en los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris* de 6 pernils de cada cruce genético elegidos al azar entre el conjunto inicial de muestras (a).

En las muestras de los jamones curados (b) se realizaron las determinaciones descritas en los apartados 1.2.2, 1.2.3, 1.2.4, 1.2.6, 1.2.7, 1.2.8, 1.3.2 y 1.5; el análisis de la actividad enzimática de las catepsinas B+L (apartado 1.4.1) y la cantidad de nitrógeno no proteico (apartado 1.4.2) se realizaron en los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris* de 20 jamones curados de cada cruce genético elegidos al azar entre el conjunto de muestras iniciales (b). La electroforesis en gel de poliacrilamida (apartado 1.4.3) se efectuó en los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris* de 6 jamones curados de cada línea genética elegidos al azar entre el conjunto de muestras iniciales a las que se analizaron todos los parámetros (b).

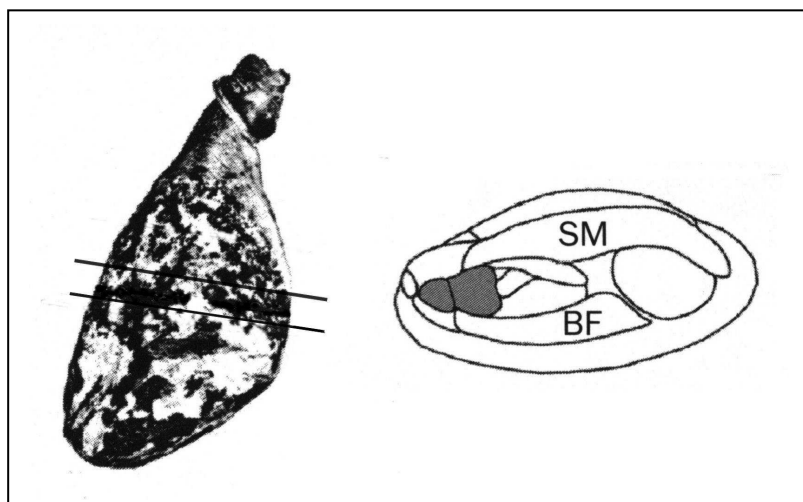
## Preparación de las muestras

Los perniles se deshuesaron en fresco y se separaron los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris*, de los cuales se eliminaron los restos de grasa de depósito. Se guardaron congelados a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  para sus posteriores análisis. En la Figura 1.1 aparece la posición que ocupan los músculos en una sección transversal del pernil.



**Figura 1.1** Posición de los músculos *Semimembranosus* (SM) y *Biceps femoris* (BF) en la sección transversal del pernil fresco.

Los jamones curados se deshuesaron y se cortaron transversalmente a nivel del hueso de la cadera. Se tomaron dos lonchas de aproximadamente 2 cm de espesor. Se mantuvieron envasadas a vacío a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de su análisis, entonces se eliminaron la piel y la grasa de depósito y se separaron los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris* del resto de la loncha. La Figura 1.2 presenta la zona del jamón de donde se tomaron las lonchas y la posición de los músculos dentro de la loncha de jamón.



**Figura 1.2** Zona del jamón de donde se tomaron dos lonchas para realizar los análisis en los músculos *Semimembranosus* (SM) y *Biceps femoris* (BF).

Para el picado y la homogeneización de las muestras se utilizó una picadora Moulinex.

Las pesadas de precisión se realizaron en una balanza analítica Mettler AE 200.

## 1.2 DETERMINACIONES FISICO-QUÍMICAS

### 1.2.1 pH y conductividad eléctrica

La medida del pH se realizó con un pHmetro portátil CRISON provisto de un electrodo de penetración. Se midió en el músculo *Semimembranosus* de los perniles a los 45 min y a las 24 h después del sacrificio del animal. La conductividad eléctrica se midió en el mismo músculo mediante un conductímetro Pork Quality Meater (ref. P.Q.M.-I-Intek, GMDH, Germany) 24 h después del sacrificio.

### **1.2.2 Determinación de la humedad**

#### **Material**

Se utilizó arena de mar y etanol absoluto de calidad para análisis de Panreac.

#### **Equipos**

Estufa Heraeus con precisión  $\pm 2$  °C.

#### **Procedimiento**

Se siguió la Norma ISO-1442 (1973). Para ello se utilizó una cápsula de cristal que contenía arena de mar de grano fino que se desecó en la estufa a  $102 \pm 2$  °C hasta peso constante. Tras enfriarla a temperatura ambiente en un desecador, se pesó y se añadieron 5 g de muestra triturada, anotando el peso exacto y 5 mL de etanol absoluto. Se mezcló todo vigorosamente con la ayuda de una varilla de vidrio previamente desecada. La cápsula se mantuvo en la estufa a  $102 \pm 2$  °C durante 4 h. Pasado este tiempo, se enfrió hasta temperatura ambiente en un desecador y se pesó. Se repitió la operación de secado hasta peso constante.

### **1.2.3 Determinación de la grasa**

#### **Reactivos**

Se utilizó éter de petróleo 40-60° de calidad para análisis de Panreac.

#### **Equipos**

Estufa Heraeus con precisión  $\pm 2$  °C.

Equipo Soxtec System HT, 1043 Extraction Unit (Tecator).



## Procedimiento

La extracción de la grasa de las muestras se realizó con éter de petróleo, en una unidad de extracción Soxtec System HT 1043 de Tecator, según la Norma ISO-1443 (1973). Se pesaron 2,5 g de muestra en un cartucho de extracción de celulosa. Se añadieron al cartucho aproximadamente 3 g de arena de mar de grano fino que se mezclaron con la muestra con ayuda de una varilla de vidrio. La muestra se introdujo en la estufa a  $102 \pm 2$  °C durante 30 min. Transcurrido este tiempo se colocó el cartucho en la unidad de extracción y se procedió a su extracción con 40 mL de éter de petróleo 40-60° durante 2 h. El disolvente se separó mediante evaporación y condensación. Una vez terminada la extracción, el crisol con la grasa extraída se introdujo en la estufa durante 2 min para eliminar el residuo de éter. Se enfrió hasta temperatura ambiente en un desecador y se pesó.

### 1.2.4 Determinación de la proteína

#### Reactivos

Se utilizaron los siguientes reactivos: ácido sulfúrico concentrado, catalizador Kjeldahl, hidróxido sódico, ácido bórico, indicador mixto (rojo de metilo - azul de metileno) de calidad para análisis de Panreac y disolución valorada de ácido clorhídrico 0,1 N de Panreac.

#### Equipos

Digestor Büchi modelo 435.

Destilador Büchi modelo 315.

## Procedimiento

El contenido en proteína se determinó por el método de Kjeldahl (MAPA, 1994). Se sometió a digestión 1 g de muestra con 20 mL de ácido sulfúrico

concentrado y el catalizador (mezcla de sulfato de potasio, sulfato de cobre II y selenio). Se transformó todo el nitrógeno presente en la muestra en sulfato amónico mediante el ataque con el ácido sulfúrico a ebullición y en presencia del catalizador. La muestra digerida se destiló en una aparato de destilación Büchi 315 tras la adición de hidróxido sódico al 40% (p/v), recogándose el destilado sobre 100 mL de ácido bórico al 2% (p/v). Finalmente, el amoniaco recogido se valoró con ácido clorhídrico 0,1 N. El valor de nitrógeno total obtenido se multiplicó por el factor 6,25 para obtener el contenido en proteína.

### **1.2.5 Análisis de la humedad, la grasa y la proteína mediante espectrofotometría de transmitancia en el infrarrojo cercano (NIT)**

#### **Equipo**

Espectrofotómetro NIRSystem-Foss, Meatspec 28800, equipado con un módulo de giro.

#### **Calibración de los métodos NIT de análisis de humedad, grasa y proteína**

##### Muestras

Las muestras utilizadas para la calibración fueron carne fresca procedente de tres músculos diferentes: *Semimembranosus*, *Biceps femoris* y *Longissimus dorsi*, tanto de cerdo blanco como de ibérico.

##### Preparación de las muestras

Para realizar los análisis de la humedad, la grasa y la proteína mediante NIT, se tomaron 150 g de las muestras de carne limpias de restos de grasa de depósito, se trocearon y se homogeneizaron con una picadora Moulinex.

### Procedimiento de medida

Las medidas de transmitancia se obtuvieron en el intervalo de 800-1100 nm. El equipo recoge la transmitancia de la muestra a once longitudes de onda diferentes, en segmentos de 30 nm.

Se colocaron aproximadamente 20 g de la muestra picada y homogeneizada en el adaptador, llenándolo por completo y se hizo una torta homogénea evitando que quedasen huecos de aire ocluidos. El adaptador se acopló en el módulo de giro y se realizó el análisis espectrofotométrico por triplicado, en tres zonas diferentes de la muestra. La medida final fue la media aritmética de los tres valores obtenidos en cada zona.

Además, se realizó la determinación de la composición química según los Métodos Oficiales de Análisis: la humedad se determinó siguiendo el procedimiento descrito en el apartado 1.2.2; la extracción de la grasa se realizó con éter de petróleo, según se ha descrito en el punto 1.2.3; el contenido en proteína se determinó por el método de Kjeldahl, tal y como se indica en el apartado 1.2.4.

### Tratamiento estadístico de los datos

Se realizó la calibración y validación para la determinación de la humedad, la grasa y la proteína, mediante el programa estadístico para análisis multivariante Unscrambler versión 5.5 (Camo A/S 1994).

Las ecuaciones de **calibración** se construyeron mediante el método de regresión por mínimos cuadrados parciales (PLS). Previamente, mediante regresión multivariante, los datos espectrales se redujeron a una serie de variables fundamentales (términos de regresión) que resumen la mayor parte de la información espectral y también fueron las que más correlacionaron con los valores de referencia (Martens y Naes, 1989). Para calcular el número óptimo de términos de la regresión se utilizó la validación cruzada, algoritmo que selecciona

diferentes colectivos de calibración y validación dentro del total de la población considerada, realizando con cada selección una simulación del algoritmo de regresión. Cada simulación dio lugar a ecuaciones con  $n$  términos, desde 1 hasta el número máximo aconsejado (generalmente uno por cada diez muestras más dos o tres términos adicionales). Finalmente el programa de cálculo seleccionó la ecuación que hace mínimo el error típico de validación cruzada o error típico de predicción (SEP).

La **validación** se efectuó separando aleatoriamente el 33% de las muestras consideradas inicialmente, las cuales no se utilizaron previamente en la calibración.

Del análisis de la regresión múltiple por mínimos cuadrados parciales, entre los resultados obtenidos por los Métodos Oficiales de Análisis y los valores predichos mediante NIT, se obtuvieron los coeficientes para cada variable independiente “x” (datos espectroscópicos), la ordenada en el origen y la pendiente de la recta de regresión lineal. Además, se calcularon: el coeficiente de correlación de Pearson ( $r$ ), la diferencia media entre los valores predichos por la ecuación y los datos químicos o BIAS, el error estándar de la calibración (SEC), el error típico de la predicción también llamado error típico de validación cruzada (SEP), el error de la calibración y de la predicción (RMSEC y RMSEP). Las fórmulas matemáticas para el cálculo de estos algoritmos aparecen en la Figura 1.3.

### **Análisis de las muestras de las genéticas A, B y C**

La humedad, la grasa y la proteína de los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris* pertenecientes a los 60 pernils en estudio, se analizaron mediante espectrofotometría en el infrarrojo cercano, siguiendo el procedimiento que se describe en este apartado (preparación de las muestras y procedimiento de medida).

$$\begin{aligned}
 \text{SEP} &= \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{N_{pr}} (\hat{y}_i - y_i - \text{BIAS})^2}{N_{pr} - 1}} & \text{RMSEP} &= \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{N_{pr}} (\hat{y}_i - y_i)^2}{N_{pr}}} \\
 \text{RMSEC} &= \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{N_c} (\hat{y}_i - y_i)^2}{N_c}} \\
 \text{BIAS} &= \frac{\sum_{i=1}^{N_{pr}} (\hat{y}_i - y_i)}{N_{pr}} & \text{RMSEP}^2 &\approx \text{SEP}^2 + \text{BIAS}^2
 \end{aligned}$$

$\hat{y}_i$  : valor predicho por NIT  
 $y_i$  : valor calculado por los Métodos Oficiales de Análisis  
 $N_c$ : nº muestras utilizadas en la calibración  
 $N_{pr}$ : nº muestras utilizadas en la validación

**Figura 1.3** Algoritmos de los errores de la regresión por mínimos cuadrados parciales.

### 1.2.6 Determinación de los cloruros

#### Reactivos

Los reactivos empleados fueron: tetraborato sódico decahidratado, acetato de zinc y cromato potásico, de calidad para análisis de Panreac. Nitrato de plata 0,1 N (disolución valorada) y cloruro sódico patrón primario de Merck. Ferrocianuro potásico de Sigma.

## **Preparación del extracto acuoso**

Previo al análisis de cloruros, nitritos y nitratos se realizó una extracción de la muestra picada con agua destilada a 60 °C.

Para ello, se homogeneizaron 10 g de muestra picada de jamón curado con 150 mL de agua destilada a 60 °C y se añadieron 5 mL de una disolución de tetraborato sódico decahidratado al 5% (p/v). La mezcla se mantuvo en agitación durante 30 min a 60 °C. Transcurrido este tiempo se añadieron 2 mL de una disolución de ferrocianuro potásico al 15% (p/v) y 2 mL de una disolución de acetato de zinc al 30% (p/v) (reactivos de Carrez), que ayudan a la defecación del precipitado y a la obtención de una disolución acuosa limpia. Se filtró a través de papel de filtro para análisis cualitativo Albet y el filtrado se llevó a un volumen final de 200 mL con agua destilada.

## **Procedimiento**

El análisis de los cloruros se realizó siguiendo el método de Möhr (Jeffery y col., 1989) que consiste en una valoración de los cloruros presentes en el extracto de la muestra con nitrato de plata en presencia de cromato potásico, como indicador.

El procedimiento consistió en diluir 10 mL del extracto acuoso en aproximadamente 100 mL de agua destilada y añadir unas gotas de una disolución de cromato potásico al 10% (p/v). La mezcla se valoró con nitrato de plata 0,1 N hasta la aparición de un precipitado de color rojo ladrillo. Los resultados se expresaron en % de NaCl.

### 1.2.7 Determinación de los nitritos

#### Reactivos

Se utilizó: nitrito sódico, ácido sulfanílico, cloruro de  $\alpha$ -naftilamina y cloruro sódico de calidad para análisis de Panreac. Ácido acético glacial de Merck.

#### Equipos

Agitador vibrador tipo Vortex marca Heidolph REAX 2000.

Espectrofotómetro Lambda 11 Perkin-Elmer.

#### Procedimiento

Se siguió un método colorimétrico (MAPA, 1994), que consiste en la formación de un compuesto coloreado entre el nitrito presente en el extracto y el ácido sulfanílico y la  $\alpha$ -naftilamina.

Se tomaron 10 mL del extracto acuoso preparado para el análisis de cloruros y se le añadieron 5 mL del Reactivo 1\* y 5 mL del Reactivo 2\*\*. La mezcla se agitó en el Vortex y se dejó reposar durante 15 min a temperatura ambiente en la oscuridad. Transcurrido este tiempo se midió su absorbancia a la longitud de onda de 520 nm.

\* Reactivo 1: 6 g de ácido sulfanílico se disolvieron al baño maría en 200 mL de ácido acético glacial y 400 mL de agua destilada, se añadieron 200 mL de una disolución de 100 g/L de cloruro sódico, la mezcla se enrasó a 1 L con agua destilada.

\*\* Reactivo 2: 0,3 g de cloruro de  $\alpha$ -naftilamina se disolvieron al baño maría en 100 mL de agua destilada, se añadió 200 mL de ácido acético glacial y se enrasó a 1 L con agua destilada.

### **1.2.8 Determinación de los nitratos**

#### **Reactivos**

Se empleó fosfato potásico y nitrato potásico de Merck.

#### **Equipos**

Cromatógrafo de líquidos de alta eficacia (HPLC) Perkin-Elmer, equipado con inyector automático LC-600, bomba binaria LC-250 y detector de diodos ultravioleta-visible LC-235C.

#### **Procedimiento**

Los nitratos presentes en el extracto acuoso preparado para el análisis de cloruros se determinaron mediante la técnica de cromatografía de líquidos de alta eficacia (HPLC), empleando un detector de diodos UV-vis. Las muestras de los extractos se filtraron a través de un filtro de 0,45 µm en viales de 0,8 mL, antes de ser inyectadas en el cromatógrafo.

#### **Condiciones cromatográficas**

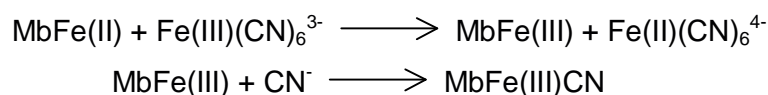
- Columna: iónica amino de 250 x 4,6 mm (Análisis Vínicos, Tomelloso, España).
- Fase móvil: fosfato potásico 20 mM pH=3.
- Flujo: 1 mL/min.
- Volumen de inyección: 10 µL.
- Detector de diodos UV-vis, longitud de onda 215 nm.



### 1.3 DETERMINACIONES RELACIONADAS CON EL COLOR

#### 1.3.1 Determinación de la mioglobina

Se siguió el procedimiento de análisis propuesto por Fleming y col. (1960), modificado por Han y col. (1994), basado en una extracción de la mioglobina de la muestra de carne con tampón fosfato y su posterior oxidación y fijación del ion cianuro ( $\text{CN}^-$ ), mediante una disolución de ferricianuro potásico y cianuro potásico. El Fe (II) de la molécula de mioglobina es oxidado a Fe (III) mediante el ferricianuro potásico, y la metamioglobina (forma oxidada de la mioglobina) es transformada a su forma más estable, la cianmetamioglobina, por la acción del cianuro potásico (Figura 1.4). El  $\text{CN}^-$ , al ser un donador de pares de electrones más fuerte que el agua, forma un enlace covalente con el ion férrico más fuerte que el que forma el agua con el ion férrico o ferroso (Rifkind, 1973).



donde:

MbFe(II): mioglobina en estado reducido

MbFe(III): mioglobina en estado oxidado (metamioglobina)

MbFe(III)CN: cianmetamioglobina.

**Figura 1.4** Formación de cianmetamioglobina a partir de ferricianuro potásico y cianuro potásico.

## **Reactivos**

Se utilizaron los siguientes reactivos: fosfato monosódico y disódico de Panreac, cianuro potásico de Merck, ferricianuro potásico y mioglobina liofilizada procedente de corazón de caballo, riqueza 95-100%, libre de sales y con un contenido en hierro de aproximadamente 0,3% (p/p) de Sigma.

## **Equipos**

Homogeneizador-dispersador tipo Ultraturrax marca Ystral modelo T 1500.

Centrífuga modelo Diqtor de Alresa y una ultracentrífuga refrigerada Sigma 3K-30, equipada con rotor apto para viales tipo eppendorff.

Agitador vibrador tipo Vortex marca Heidolph REAX 2000.

Espectrofotómetro Lambda 11 Perkin-Elmer.

## **Procedimiento**

### Extracción de la mioglobina

Se homogeneizaron 15 g de carne fresca picada en 20 mL de tampón fosfato 0,01 M pH=6,3, en un Ultraturrax durante 1 min. La muestra se centrifugó a 5000 rpm durante 20 min a 4 °C. El sobrenadante se filtró a través de papel de filtro Albet y se recogió el filtrado en un matraz aforado de 50 mL. Se volvió a extraer el precipitado con 15 mL del tampón fosfato mediante agitación durante 2 min con un Vortex. Se centrifugó a 5000 rpm durante 20 min a 4 °C. Se recogió el filtrado en el mismo matraz que la primera fracción. Se enrasó a 50 mL con el tampón de extracción.

### Ensayo colorimétrico

Se hicieron reaccionar 5 mL del extracto con 0,5 mL de Reactivo\*, agitando durante 10 s en el Vortex. Se separó una alícuota en un vial eppendorff

y se centrifugó a 2000 x g durante 15 min. Se filtró a través de un filtro de tamaño de poro de 0,2 µm y se midió la absorbancia a 540 nm.

\* Reactivo: disolución de ferricianuro potásico ( $K_3FeCN_6$ ) 1,98% (p/v) y cianuro potásico (KCN) 0,52% (p/v), en agua destilada.

### **1.3.2 Determinación de los hemopigmentos**

El método de extracción de los hemopigmentos de las muestras de jamón curado se basó en el procedimiento propuesto por Hornsey (1956) con modificaciones.

#### **Reactivos**

Se utilizó acetona de Merck y ácido clorhídrico de Panreac.

#### **Equipos**

Espectrofotómetro Lambda 11 Perkin-Elmer.

#### **• Determinación de los nitrosopigmentos**

Consiste en la extracción selectiva del complejo acetona-nitrosopigmentos mediante una mezcla acetona/agua (4:1), teniendo en cuenta la cantidad de agua aportada por la muestra.

El procedimiento fue el siguiente: se pesaron 10 g de jamón curado a los que se les añadió 40 mL de acetona y una cantidad de agua destilada variable según la humedad de la muestra hasta alcanzar la proporción 4:1 acetona/agua. Se mantuvo en agitación a 4 °C durante 12 h. Transcurrido este tiempo se filtró a través de papel Whatman nº 42 y se enrasó a 50 mL con una disolución acetona/agua (4:1). Se midió la absorbancia a 540 nm.

### • Determinación de los pigmentos totales

Se pesaron 10 g de muestra a los que se añadieron 40 mL de acetona, agua destilada hasta alcanzar un total de 9 mL (según la humedad de la muestra) y 1 mL de ácido clorhídrico 12 N. La muestra permaneció en agitación a 4 °C durante 12 h. Se filtró a través de papel Whatman nº 42 y se enrasó a 50 mL con una disolución de acetona/agua/ácido clorhídrico (40:9:1). Se midió la absorbancia a una longitud de onda de 640 nm.

### Cálculo de la cantidad de hematina

La cantidad de nitrosopigmentos y de pigmentos totales se expresó en ppm de hematina, calculados a partir de la fórmula propuesta por Gorospe y col. (1986):

$$\text{ppm Hematina} = \frac{A \cdot V \cdot 652}{E_{1\text{cm}}^{\text{mM}} \cdot l \cdot p}$$

siendo:

A: absorbancia leída a 540 y 640 nm en la determinación de nitroso-pigmentos y pigmentos totales, respectivamente.

V: volumen total empleado en mL.

652: peso molecular de la molécula de hematina.

$E_{1\text{cm}}^{\text{mM}}$ : coeficiente de extinción milimolar de la hematina, que toma el valor de 11,3 y 4,8 cm<sup>2</sup>/mM a 540 y 640 nm, respectivamente.

l: longitud de la cubeta expresado en centímetros.

p: peso de la muestra expresado en g.

## 1.4 DETERMINACIONES PARA EL SEGUIMIENTO DE LA PROTEOLISIS

### 1.4.1 Actividad enzimática de las catepsinas B+L

#### Reactivos

Acetato sódico y tartrato sodico-potásico de Panreac. Cloruro sódico, sal disódica del ácido etilendiaminotetracético, fosfato de sodio-potasio, Brij 35, dimetilsulfóxido (DMSO), ácido tricloroacético, yoduro potásico y sulfato cúprico pentahidratado de Merck. Tritón X-100 de Probus. Papaína, cisteína y aminometilcoumarina de Sigma. N-CBZ-L-fenilalanil-L-arginina-7-amido-4-metilcoumarina (Z-Phe-Arg-NHMec) de Bachem. Albúmina de suero bovino liofilizada de Bio-Rad. Gel de sepharosa 4B-CNBr de Pharmacia.

#### Equipos

Homogeneizador-dispersador tipo Ultraturrax marca Ystral modelo T 1500.

Agitador vibrador tipo Vortex marca Heidolph REAX 2000.

Ultracentrífuga refrigerada Sigma 3K-30.

Espectrofotómetro Lambda 11 Perkin-Elmer.

Espectrofluorímetro marca Shimadzu, modelo RF-5001 PC.

#### Procedimiento

##### Preparación del extracto

Se siguió el procedimiento propuesto por Etherington y col. (1987) y Koohmaraie y Kretchmar (1990). Los extractos de las enzimas lisosomales se obtuvieron mediante la homogeneización de 5 g de muestra de carne fresca o de jamón curado con 35 mL de tampón acetato sódico 50 mM pH=5, que contenía NaCl 100 mM, Na<sub>2</sub>EDTA 1 mM y Tritón X-100 0,2% (v/v). El extracto se mantuvo en agitación a 4 °C durante 1 h. Se centrifugó a 32000 x g durante 30 min. Se filtró a través de lana de vidrio previamente desionizada.

### Semipurificación de las catepsinas

La actividad de las catepsinas B+L se determinó después del aislamiento de su inhibidor, la cistatina, mediante cromatografía de afinidad, para lo cual, en una columna Econo-column (Bio-Rad) se añadieron 2 mL de gel de sepharosa 4B-CNBr al que se le había unido papaína. El gel se equilibró con 3 x 2 mL de tampón de elución acetato sódico 50 mM pH=5 al que se añadió NaCl 100 mM y Na<sub>2</sub>EDTA 1 mM.

Se añadieron 2 mL del extracto de la muestra y se mantuvieron en agitación oscilante a 4 °C durante 2 h, de esta forma el gel une sobre su superficie las moléculas de inhibidor. Una vez finalizado el tiempo de agitación y asentado el gel se procedió a la elución del extracto por gravedad. Se obtuvieron 4 fracciones: el eluido de los 2 mL de extracto y otras 3 fracciones de 2 mL obtenidas de sucesivos lavados con el tampón acetato sódico pH=5. La última elución no presentó actividad enzimática, por lo que sirvió para lavar la columna.

### Determinación de la actividad enzimática de las catepsinas B+L

Para determinar la actividad enzimática de las catepsinas B+L se siguió el método propuesto por Barrett (1980) y Koohmaraie y Kretchmar (1990). Las muestras se analizaron por duplicado utilizando un blanco para cada muestra. En cada tubo de ensayo se añadieron: 500 µL de tampón activador (tampón fosfato Na-K 0,4 M pH=6 con Na<sub>2</sub>EDTA 4 mM y cisteína 40 mM), 25 µL del extracto sin inhibidor procedente de carne fresca o 100 µL del extracto sin inhibidor procedente de jamón curado, 1 mL de diluyente Brij, 0,5 mL de sustrato enzimático N-CBZ-L-fenilalanil-L-arginina-7-amido-4-metilcoumarina (Z-Phe-Arg-NHMec) y 2 mL de disolución de parada (ácido tricloroacético al 10%, p/v), la cual se añade a los ensayos en blanco antes del sustrato y a las muestras después del mismo. La reacción se desarrolló a 37 °C durante 15 min.

Se midió la fluorescencia de los ensayos en un espectrofluorímetro utilizando las longitudes de onda de excitación y de emisión, 340 nm y 460 nm, respectivamente.

#### Determinación de proteínas totales mediante el método de Biuret

La cuantificación de la proteína total se realizó para referir la actividad de las catepsinas B+L a las proteínas totales del extracto obtenido a partir de la muestra.

Se siguió el método propuesto por Gornall y col. (1949), el cual se basa en la reacción entre los enlaces peptídicos de las proteínas y los iones Cu (II), en medio alcalino, para formar un compuesto coloreado cuya absorbancia se mide espectrofotométricamente a una longitud de onda de 545 nm.

#### *Procedimiento*

Se diluyeron 0,3 mL de cada muestra con 0,7 mL de agua mQ, y se le adicionaron 4 mL del Reactivo de Biuret\*. La mezcla se agitó en un Vortex y se dejó reposar durante 30 min antes de medir su absorbancia a una longitud de onda de 545 nm.

\* Reactivo de Biuret: se disolvieron 5 g de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  en 500 mL de agua destilada, a los que se añadieron 9 g de tartrato de sodio-potasio y 5 g de yoduro potásico. El tartrato de sodio-potasio acompleja los iones cobre y los mantiene en disolución en medio alcalino. El yoduro potásico actúa como antioxidante.

#### Expresión de los resultados

Los resultados se expresaron en miliunidades de actividad enzimática (mU) por gramo de muestra. Una Unidad de actividad enzimática (Unidad Internacional) se define como la cantidad de enzima que cataliza la conversión de

1  $\mu$ mol de sustrato (o formación de 1  $\mu$ mol de producto) en 1 min, en un ensayo enzimático.

#### **1.4.2 Determinación del nitrógeno no proteico**

##### **Reactivos**

Ácido perclórico, hidróxido potásico, ácido sulfúrico concentrado, catalizador Kjeldahl, hidróxido sódico, ácido bórico, ácido clorhídrico 0,1 N (disolución valorada), todos fueron de calidad para análisis de la marca Panreac.

##### **Equipos**

Homogeneizador-dispersador tipo Ultraturrax marca Ystral modelo T 1500.

Digestor marca Büchi modelo 435.

Destilador marca Büchi modelo 315.

##### **Procedimiento**

Se siguió el procedimiento propuesto por Keresse (1984). Se homogeneizaron 5 g de jamón curado picado en 50 mL de  $\text{HClO}_4$  0,6 N, mediante un Ultraturrax durante 40 s. El homogeneizado permaneció 1 h en reposo a 4 °C. Transcurrido este tiempo se filtró en frío a través de papel Whatman nº 6 recogiendo el filtrado en un matraz Erlenmeyer de 100 mL. Una vez el filtrado alcanzó la temperatura ambiente se ajustó el pH a 6 con KOH al 30% (p/v). Se enrasó a 100 mL con agua destilada y se dejó en reposo a 4 °C durante 12 h. Transcurrido este tiempo se filtró a través de papel Whatman nº 6.

El contenido en nitrógeno no proteico se determinó mediante el método de Kjeldahl (MAPA, 1994) (apartado 1.2.4).



### 1.4.3 Electroforesis desnaturalizante en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE)

#### Material

Se utilizaron los siguientes reactivos: cloruro sódico, cloruro potásico, cloruro de magnesio, sal disódica del ácido etilendiaminotetracético, yoduro potásico y dodecil sulfato sódico de Panreac; fosfato monopotásico y dipotásico, azul de bromofenol,  $\beta$ -mercaptoetanol, azul de Comassie R-350 (Pharmacia), metanol, ácido acético y glicerol de Merck; Tris-HCl de Sigma.

Se utilizó una membrana de diálisis de 7000 Da (Cultek).

Para el desarrollo electroforético se utilizó un tampón de electrodos en tiras sólidas y geles de poliacrilamida con gradiente de porosidad PhastGel 10-15 y 8-25 (Pharmacia).

Se utilizó el marcador Sigmamarker de peso molecular 6,5-205 kDa (Sigma).

#### Equipos

Homogeneizador-dispersador tipo Ultraturrax marca Heidolph RZR 2050.

Centrífugas refrigeradas Selecta y Beckman modelo J2-21.

Equipo PhastSystem (Pharmacia Biotech).

#### Extracción de las proteínas sarcoplasmáticas y miofibrilares

La extracción de las proteínas solubles en tampones de baja fuerza iónica (sarcoplasmáticas) se realizó siguiendo el método descrito por Monin y col. (1997): se homogeneizaron 4 g de muestra con 40 mL de NaCl 150 mM, KCl 25 mM, MgCl<sub>2</sub> 5 mM, Na<sub>2</sub>-EDTA 4 mM, pH=6,5, durante 5 min en un homogeneizador dispersador tipo Ultraturrax; la extracción se realizó a 4 °C durante 30 min, después se centrifugó a 10.000 x g durante 10 min. El sobrenadante se filtró a través de lana de vidrio y se mantuvo congelado a -20° C hasta el momento de su diálisis.

La extracción de proteínas solubles en tampón de alta fuerza iónica (miofibrilares) se realizó, a partir del precipitado anterior, siguiendo el método descrito por Helander y col. (1957) con modificaciones: el precipitado se extrajo 3 veces consecutivas con 20 mL de KI 1,1 M en tampón fosfato 0,1 M pH=7,4, homogeneizando cada vez durante 5 min en un Ultraturrax; las extracciones se realizaron a 4 °C durante 3 h y se centrifugó a 4000 rpm 20 min a 4 °C. Los sobrenadantes se filtraron en lana de vidrio y se mezclaron, manteniéndose congelados a -20 °C hasta el momento de su diálisis.

### **Diálisis y desnaturalización de las proteínas**

La diálisis de las muestras se realizó a través de una membrana de 7000 Da, en tampón fosfato 0,01 M pH=7,1, mediante agitación durante 14-18 h a 4 °C.

Una vez dializados los extractos se desnaturalizaron, según Toldrá y col. (1990), con tampón Tris-HCl pH=8,0, el cual contenía SDS 5% (p/v),  $\beta$ -mercaptoetanol 14,5% (v/v), glicerol 31% (v/v), azul de bromofenol 0,03% (p/v). Se utilizaron 2  $\mu$ L de cada solución en cada separación electroforética.

### **Separación electroforética**

Se realizó la electroforesis horizontal SDS-PAGE en un equipo PhastSystem. Se utilizaron geles de poliacrilamida con gradiente de porosidad (0,112 M acetato, 0,112 M Tris pH=6,4) de dos tipos: PhastGel 10-15 para la separación de las proteínas sarcoplasmáticas en el rango de pesos moleculares 10-250 kDa y PhastGel 8-25 para las miofibrilares comprendidas entre 6 y 300 kDa. El tampón de los electrodos en tiras sólidas estaba compuesto por 0,2 M tricina, 0,2 M Tris, 0,55% SDS, pH=8,1. En las Tablas 1.1 y 1.2 se indican las condiciones de separación para las proteínas sarcoplasmáticas y miofibrilares según el manual PhastSystem (Pharmacia Biotech, 1986b).

**Tabla 1.1** Método de separación de proteínas sarcoplasmáticas mediante el PhastSystem (Pharmacia Biotech, 1986b).

Etapa	Voltaje (V)	Intensidad (mA)	Potencia (W)	Temperatura (°C)	Tiempo (Vh)
1	250	10,0	3,0	15	60
2	50	0,1	0,5	15	0

**Tabla 1.2** Método de separación de proteínas miofibrilares mediante el PhastSystem (Pharmacia Biotech, 1986b).

Etapa	Voltaje (V)	Intensidad (mA)	Potencia (W)	Temperatura (°C)	Tiempo (Vh)
1	250	10,0	3,0	15	65
2	50	0,1	0,5	15	0

Los geles se tiñeron con azul de Comassie R-350 disuelto en agua/metanol (4:6) que se diluyó al 50% con una solución de ácido acético al 20% (v/v). Los geles se decoloraron dos veces con metanol/ácido acético/agua (3:1:6). Se empleó glicerol al 13% (v/v) para dar consistencia al gel. Para realizar la tinción y decoloración se siguieron las recomendaciones del manual PhastSystem que aparecen en la Tabla 1.3 (Pharmacia Biotech, 1986a).

Posteriormente los geles se secaron al aire durante 48-72 h entre dos hojas de papel de celofán empapadas en glicerol al 13% (v/v).

**Tabla 1.3** Método de tinción y decoloración de los geles con azul de Comassie (Pharmacia Biotech, 1986a).

Etapa	Solución	Tiempo (min)	Temperatura (°C)
1	Teñido	8	50
2	Lavado/Desteñido	5	50
3	Lavado/Desteñido	8	50
4	Lavado/Desteñido	10	50
5	Solución de conservación	5	50

### **Cuantificación de las bandas electroforéticas**

La cuantificación de las bandas electroforéticas se realizó mediante el escaneado previo de los geles con el programa Photophinish (TDI) y la lectura densitométrica con el programa 1D-Manager (TDI, España).

La masa molecular de cada banda electroforética se estimó mediante el cálculo de su  $R_f$  y la posterior interpolación en una recta de calibrado construida a partir de un marcador de peso molecular conocido (apartado 1.7.8).

## **1.5 MEDIDA INSTRUMENTAL DE LA TEXTURA**

### **Equipos**

Texturómetro Instron modelo 4301, equipado con el accesorio de cizallamiento Warner-Bratzler.

## **Preparación de las muestras**

Se separaron los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris* del resto de la loncha de jamón curado y se eliminaron los restos de grasa de depósito. Se cortaron 3 cubos de 1 cm de lado de diferentes zonas de cada músculo.

## **Procedimiento**

Se realizó un ensayo de compresión similar al utilizado por Virgili y col. (1995), para ello se utilizó una célula de carga de 1 kN, con una velocidad de descenso de la cruceta de 50 mm/min y un recorrido de 34 mm. Las muestras se colocaron debajo de la cuchilla de forma que el corte se efectuó perpendicular a las fibras musculares. El programa informático Instron Serie IX se seleccionó para obtener gráficas de la fuerza de resistencia al corte frente al desplazamiento. Se midió la fuerza máxima en carga máxima (pico de fuerza de resistencia al corte máximo en la gráfica).

## **1.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Para aplicar los tratamientos matemáticos se utilizó el programa estadístico SPSS 10.0 para Windows 2000.

Se aplicaron los métodos estadísticos siguientes: el Test de Student-Newman-Keuls, el Test de la Mínima Diferencia Significativa y el Test de la t de Student para analizar la existencia de diferencias significativas entre los valores medios de poblaciones. Se estudió la correlación entre variables mediante el Análisis de Correlación de Pearson. Se realizó el Análisis de Componentes Principales (ACP).

## **1.7 RESULTADOS**

### **1.7.1 Caracterización de los cruces genéticos A, B y C**

#### **Parámetros productivos**

Los resultados obtenidos a partir del control efectuado en la fase de cebo fueron los siguientes: no se encontraron diferencias significativas respecto al consumo de pienso medio diario entre las tres genéticas, en cambio, el índice de conversión fue significativamente superior y, por tanto, más desfavorable (desde el punto de vista económico) para la genética C y la ganancia media diaria fue mayor para la genética B. Además, este cruce genético aumentó de peso a lo largo de todo el cebo y hasta el momento de su sacrificio.

#### **Parámetros de matadero y sala de despiece**

El rendimiento de la canal y la conformación de la misma fue significativamente superior para la genética B. La genéticas C y B fueron las que obtuvieron mayor valor del espesor de la grasa dorsal. El escandallo resultó más desfavorable para la genética C, ya que obtuvo los valores medios más bajos del peso de los perniles y los lomos.

La genética C aportó el mayor porcentaje (60%) de perniles con un espesor de la grasa de depósito superior a 2 cm, seguido de la genética B (31%) y por último la genética A (9%). El peso medio de los perniles fue de  $11,5 \text{ kg} \pm 0,8$  para la genética A,  $11,1 \text{ kg} \pm 0,9$  para la genética B y  $10,5 \text{ kg} \pm 0,8$  para la genética C, encontrándose diferencias significativas entre los tres cruces.

#### **Jamones curados**

El peso medio de los jamones con 11 meses de curado fue significativamente mayor en la genética A ( $7,5 \text{ kg} \pm 0,6$ ) y en la genética B ( $7,3 \text{ kg} \pm 0,6$ ) que en la genética C ( $7,0 \text{ kg} \pm 0,6$ ). No se encontraron diferencias

significativas entre los tres cruces genéticos respecto a la merma media final que se consiguió en los jamones curados (33,7% de la genética A, 34,2% en la genética B y 33,6% en la genética C).

### 1.7.2 Calibración de los métodos NIT de análisis de la humedad, la grasa y la proteína

Se realizó la calibración y la validación de los métodos NIT de análisis de la humedad, la grasa y la proteína mediante regresión por mínimos cuadrados parciales (PLS). En la Tabla 1.4 aparece el número total de muestras utilizadas (n), así como los valores medios y la desviación estándar de su composición. Se obtuvieron las ecuaciones representadas en la Tabla 1.5.

**Tabla 1.4** Composición de las muestras utilizadas para realizar la calibración y la validación de los métodos NIT de análisis de la humedad, la grasa y la proteína.

	n	VALOR MEDIO (%)	S.D.	MIN-MÁX (%)
<b>HUMEDAD</b>	199	72,11	2,14	67,30 - 77,71
<b>GRASA</b>	201	4,97	2,21	0,60 - 11,53
<b>PROTEÍNA</b>	200	21,13	1,23	17,68 - 23,20

n: nº de muestras  
S.D.: desviación estándar

La Figura 1.5 muestra las rectas de regresión de los datos predichos por NIT frente a los datos obtenidos por los Métodos Oficiales de Análisis. En la Tabla 1.6 aparecen los valores del coeficiente de correlación de Pearson (r), error estándar de la calibración (SEC), el error de la calibración (RMSEC), y la diferencia media entre los valores predichos por la ecuación y los datos químicos (BIAS).

**Tabla 1.5** Ecuaciones de regresión de los datos predichos por NIT frente a los datos obtenidos por los Métodos Oficiales de Análisis.

Ecuaciones	
Humedad	$y=22,68-31,02\lambda_1+6,42\lambda_2+66,43\lambda_3-45,85\lambda_4+1,12\lambda_5+12,08\lambda_6-41,8\lambda_7+113,21\lambda_8-53,07\lambda_9-91,57\lambda_{10}+64,04\lambda_{11}$
Grasa	$y=-16,07-21,99\lambda_1+57,01\lambda_2-22,7\lambda_3-67,27\lambda_4+75,56\lambda_5-40,86\lambda_6+52,18\lambda_7-65,23\lambda_8+43,57\lambda_9+16,32\lambda_{10}-25,35\lambda_{11}$
Proteína	$y=20,21+64,86\lambda_1-87,59\lambda_2-74,91\lambda_3+177,93\lambda_4-94,79\lambda_5-7,82\lambda_6+55,08\lambda_7-70,49\lambda_8+11,3\lambda_9+69,71\lambda_{10}-43,32\lambda_{11}$

$\lambda_i$ : longitud de onda del equipo

**Tabla 1.6** Estadísticos de las ecuaciones obtenidas para la calibración de la humedad, la grasa y la proteína.

	n	PENDIENTE	o.o.	r	SEC	RMSEC	BIAS
<b>HUMEDAD</b>	133	0,95	3,65	0,97	0,48	0,48	0,53E-4
<b>GRASA</b>	135	0,94	0,28	0,97	0,53	0,53	-0,17E-4
<b>PROTEÍNA</b>	131	0,86	2,64	0,94	0,43	0,43	-0,13E-4

n: nº de muestras

o.o.: ordenada en el origen

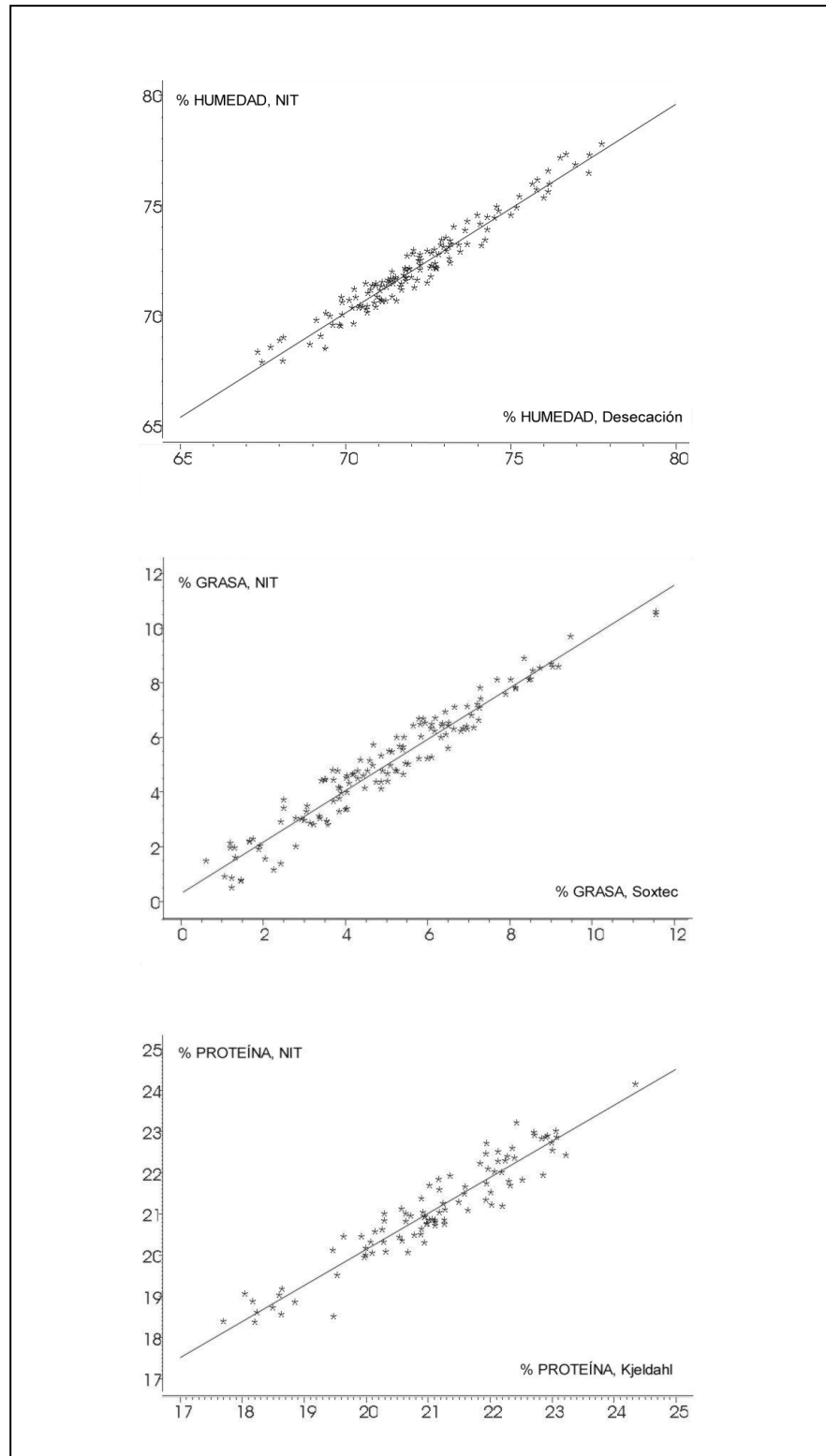
r: coeficiente de correlación de Pearson

SEC: error estándar de la calibración

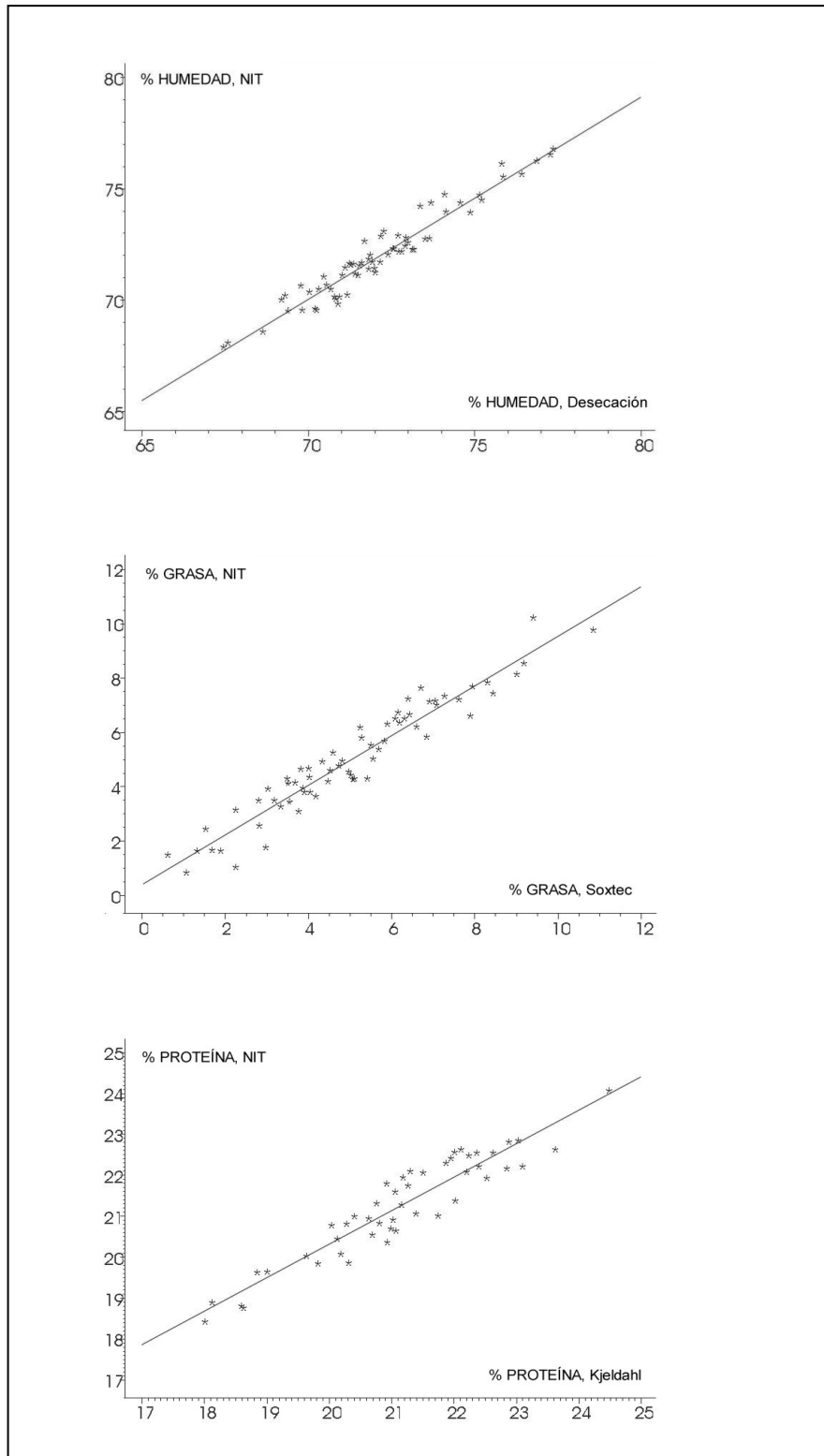
RMSEC: error de la calibración

Los coeficientes de correlación fueron superiores a 0,9 en todos los casos. Los errores típicos obtenidos mediante los Métodos Oficiales de Análisis fueron menores que los errores de calibración: 0,07 para el análisis de la humedad, 0,19 para la grasa y 0,21 para la proteína.





**Figura 1.5** Rectas de regresión de los datos predichos por NIT frente a los datos obtenidos por los Métodos Oficiales de Análisis para la calibración de los métodos de análisis de la humedad, la grasa y la proteína.



**Figura 1.6** Rectas de regresión de los datos predichos por NIT frente a los obtenidos mediante los Métodos Oficiales de Análisis para la validación de los métodos de análisis de la humedad, la grasa y la proteína.

Una vez obtenidas las ecuaciones se procedió a la **validación** del método, utilizando el 33% del conjunto inicial de las muestras que no intervinieron en la calibración. La Figura 1.6 muestra las rectas de regresión de los datos predichos mediante NIT frente a los obtenidos por los Métodos Oficiales de Análisis para el conjunto de las muestras incluidas en la validación. En la Tabla 1.7 aparecen los valores de los estadísticos de la validación. Se obtuvieron coeficientes de correlación lineal superiores a 0,92 y los errores estándar de predicción (SEP) fueron inferiores a 0,62.

**Tabla 1.7** Estadísticos de las ecuaciones obtenidas para la validación de la humedad, la grasa y la proteína.

	<b>n</b>	<b>PENDIENTE</b>	<b>o.o.</b>	<b>r</b>	<b>SEP</b>	<b>RMSEP</b>	<b>BIAS</b>
<b>HUMEDAD</b>	66	0,91	6,65	0,97	0,56	0,57	0,151
<b>GRASA</b>	66	0,91	0,40	0,96	0,62	0,62	-0,029
<b>PROTEÍNA</b>	69	0,82	3,92	0,92	0,49	0,50	0,117

n: nº de muestras

o.o.: ordenada en el origen

r: coeficiente de correlación de Pearson

SEC: error estándar de la calibración

RMSEC: error de la calibración

Diferentes autores han realizado calibraciones de equipos que recogen el espectro de la muestra mediante transmitancia para el análisis de la humedad, la grasa y la proteína en carne fresca. En la Tabla 1.8 aparece la metodología y los resultados de las diferentes publicaciones. Los equipos de transmitancia citados en la tabla poseen monocromador, a diferencia del equipo empleado en este estudio que utiliza filtros para seleccionar las longitudes de onda. Los coeficientes de correlación encontrados en todos los trabajos son siempre inferiores para la determinación de la proteína.

**Tabla 1.8** Calibraciones de diferentes equipos NIT para el análisis de humedad, grasa y proteína en carne fresca.

Referencia	Tipo muestra	Nº muestras	Equipo	Método calibración	Constituyente (*)	Rango concentración (%)	r	Error de predicción	Algoritmo del error
Lanza (1983)	Ternera y cerdo	91	Neotec 6350 Spectrocomputer	MLR	H	65-76	0,94	0,64	SEP
					G	4-16	0,99	0,28	
					P	18-26	0,79	0,70	
Berg y Kolar (1991)	Ternera y cerdo	400	Infratec Food and Feed Analyzer Tecator	PLS	H	69,5-76,6	0,94	0,61	SEP
					G	0,9-9,6	0,97	0,6	
					P	18,7-23,2	0,91	0,37	
Isaksson y col. (1992)	Ternera	100	Infratec	PCR	H	69,5-76,6	0,99	0,37	RMSEP
					G	0,9-9,6	0,99	0,38	
					P	18,7-23,2	0,97	0,27	
Valero y col. (1998)	Cerdo	93	Meat Analyzer Infratec 1265 (Tecator)	MLR					
					G	0,19-4,35	0,97	0,17	SEP
								0,29	RMSEP

(\*) H: Humedad (%), G: Grasa (%) y P: Proteína (%)

### 1.7.3 Recta de calibrado para el análisis de los nitritos

Para la construcción de la recta de calibrado se preparó una disolución madre de nitrito sódico de 1000 ppm que se sometió a diluciones sucesivas para obtener seis puntos de la recta de calibrado, cuyas concentraciones fueron: 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 y 1 ppm.

El procedimiento de análisis de los estándares utilizados en la construcción de la recta de calibrado fue el mismo que el seguido para el análisis de las muestras (apartado 1.2.7).

La recta de calibrado obtenida fue:  $A_{520} = -0,0008 + 0,3396 [\text{NaNO}_2]$ , con  $r^2=0,9998$ .

### 1.7.4 Recta de calibrado para el análisis de los nitratos

A partir de una disolución madre de nitrato potásico en agua Milli-Q de concentración 1000 ppm se efectuaron diluciones sucesivas hasta obtener disoluciones con las siguientes concentraciones: 1, 2, 4, 6, 8 y 10 ppm, para construir la recta de calibrado.

Los estándares se filtraron a través de un filtro de 0,45  $\mu\text{m}$  en viales de 0,8 mL y se inyectaron según las condiciones recogidas en el apartado 1.2.8.

La recta de calibrado obtenida fue:  $A_{215} = 1,506 \cdot 10^4 + 2,013 \cdot 10^5 [\text{KNO}_3]$ , con  $r^2=0,9999$ .

### 1.7.5 Recta de calibrado para el análisis de la mioglobina

Para la cuantificación de la mioglobina se preparó una disolución patrón de 1000 ppm de mioglobina en tampón fosfato 0,01 M pH=6,3, a partir de la cual se obtuvieron disoluciones de calibrado de 100 a 1000 ppm, mediante diluciones

sucesivas de la disolución patrón, utilizando como disolvente tampón fosfato 0,01 M pH=6,3.

Para el análisis de los estándares se utilizó el mismo ensayo colorimétrico que el realizado con los extractos de las muestras de carne fresca, descrito en el apartado 1.3.1.

La recta de calibrado fue:  $A_{540} = -0,0106 + 0,0005 [Mb]$ , con  $r^2 = 0,9979$ .

#### **1.7.6 Recta de calibrado para el análisis de la actividad enzimática de las catepsinas B+L**

Se realizó una recta de calibrado con aminometilcoumarina. Se preparó una disolución madre 4 mM en dimetilsulfóxido, a partir de la cual, y por diluciones sucesivas utilizando agua ultrapura, se obtuvieron los estándares de 0,02; 0,04; 0,06; 0,08 y 0,1  $\mu$ M.

El análisis de los estándares se realizó de la misma forma que el de los extractos de las muestras descrito en el apartado 1.4.1.

La recta de calibrado obtenida para el análisis de la carne fresca fue: Intensidad fluorescencia =  $0,33 + 28,76 [\text{aminometilcoumarina}]$ , con  $r^2 = 0,9999$ .

La recta de calibrado obtenida para el análisis del jamón curado fue: Intensidad fluorescencia =  $-0,04 + 30,55 [\text{aminometilcoumarina}]$ , con  $r^2 = 0,9999$ .

#### **1.7.7 Recta de calibrado para el análisis de proteínas mediante el método de Biuret**

Se preparó una disolución madre de albúmina de suero bovino 10 mg/mL, a partir de la cual y por diluciones sucesivas se obtuvieron los estándares de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 y 10 mg/mL.

El procedimiento de análisis de los estándares fue similar al de los extractos de las muestras descrito en el apartado 1.4.1.

La recta de calibrado obtenida fue:  $A_{545} = 0,0145 + 0,0495 [\text{albúmina}]$ , con  $r^2 = 0,9996$ .

### 1.7.8 Recta de calibrado para el cálculo del peso molecular correspondiente a las bandas electroforéticas obtenidas mediante SDS-PAGE

Para calcular el peso molecular correspondiente a cada banda electroforética se interpoló su  $R_f$  en una recta de calibrado construida a partir de un marcador de peso molecular conocido (Tabla 1.9).

**Tabla 1.9** Peso molecular de las proteínas componentes del kit de Sigma empleado como patrón para el cálculo del peso molecular de las proteínas de las muestras.

PROTEÍNA	PESO MOLECULAR (kDa)
Miosina	205
$\beta$ -galactosidasa	116
Fosforilasa b	97
Fructosa-6-fosfato kinasa	84
Seroalbúmina bovina	66
Glutámico deshidrogenasa	55
Ovoalbúmina	45
Gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa (músculo de conejo)	36
Anhidrasa carbónica	29
Tripsinógeno	24
Inhibidor de tripsina	20
$\alpha$ -Lactalbúmina	14,2
Aprotinina	6,5

La recta de calibrado fue calculada mediante el programa 1D-Manager (TDI, España) para cada gel analizado. Un ejemplo de las rectas de calibrado resultantes fue:  $\text{Log}_{10} P_m = 5,47 - 1,68 R_f$ , con  $r^2 = 0,9899$ .

## 1.8 CONCLUSIONES

Genética A: 75% Duroc y 25% Landrace  
Genética B: 50% Duroc, 25% Landrace y 25% Large White  
Genética C: 75% Duroc y 25% Landrace

**1.-** El cruce genético B muestra los valores de los parámetros productivos, de matadero y sala de despiece más favorables desde el punto de vista económico (ganancia de peso media diaria de los animales y rendimiento, conformación y espesor de la grasa dorsal de la canal).

**2.-** El cruce genético C proporciona el mayor número de pernils con un espesor de grasa de cobertura superior a 2 cm, pero da lugar a los jamones frescos y curados de menor peso.

**3.-** La técnica de espectrofotometría de infrarrojo cercano, que utiliza el equipo NIRSystem-Foss Meatspec 28800, para el análisis simultáneo de humedad, grasa y proteína en carne fresca, presenta las ventajas de ser rápida, sencilla, limpia (no ocasiona residuos químicos contaminantes) y económica. Requiere una mínima preparación de muestra, sin gastos de reactivos. Es útil su implantación como método analítico sistemático en el laboratorio de Control de Calidad de la Empresa.



## **CAPÍTULO 2: DETERMINACIONES FÍSICO-QUÍMICAS Y DE COLOR EN EL PERNIL FRESCO**

### **2.0 INTRODUCCIÓN**

El primer elemento que interviene en la calidad final del jamón es la naturaleza de la materia prima que se emplea en su elaboración.

Para fabricar jamones curados de cerdo blanco en España: Las hembras de cerdo blanco que se suelen utilizar proceden fundamentalmente de cruces de las razas: Landrace x Large White o Landrace x Duroc, mientras que los machos finalizadores más utilizados son híbridos: Large White x Pietrain y Large White x Duroc (en el caso de productos de calidad). Como macho musculado se utiliza también la raza Landrace Belga.

En esta memoria se ha realizado un estudio comparativo, en cuanto a parámetros físico-químicos e índices de color, de los perniles procedentes de tres líneas genéticas en las que se utilizaron los cruces: ♂Duroc x ♀(Duroc x Landrace) y ♂(Duroc x Large White) x ♀(Duroc x Landrace).

### **2.1 MATERIAL Y MÉTODOS**

#### **2.1.1 Muestras**

Se analizaron los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris* de 17 perniles frescos de la genética A, 23 de la genética B y 20 de la genética C (ver apartado 1.1).

### 2.1.2 Métodos

Se midió el pH a los 45 min y el pH y la conductividad eléctrica a las 24 h *post mortem* en el músculo *Semimembranosus*, según se describe en el apartado 1.2.1.

Para definir la composición química de los perniles a los 5 días *post mortem* y comprobar que se ajustaban a los valores normales definidos por la empresa, se determinó el porcentaje de la humedad, la grasa y la proteína en los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris*. Para ello se utilizó un equipo NIT, previamente calibrado y validado (apartado 1.2.5 y 1.7.2).

Se determinó la cantidad de mioglobina mediante el método descrito en el apartado 1.3.1, con objeto de conocer la influencia de la misma sobre el desarrollo del color típico del curado.

En el tratamiento estadístico de los datos se aplicó el Test de Student-Newman-Keuls y el Test de la t de Student para analizar la existencia de diferencias significativas entre los valores medios de tres y dos poblaciones, respectivamente (apartado 1.6).

## 2.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 2.2.1 Escandallos

Se realizó el escandallo o despiece de los perniles de los tres cruces genéticos A, B y C antes de realizar el recorte de la piel en forma de V. En la Tabla 2.1 aparecen los valores medios y las desviaciones estándar del peso de la pieza entera, del hueso, de la grasa de depósito, de la piel, de la maza (conjunto de músculos dentro de los cuales el *Semimembranosus* es el que posee mayor peso) y de la contramaza (grupo de músculos donde el *Biceps femoris* es el de mayor peso).

**Tabla 2.1** Valores medios y desviaciones estándar del escandallo o despiece de los pernils de los cruces genéticos A, B y C.

	<b>A</b> (n=17)	<b>B</b> (n=23)	<b>C</b> (n=20)
<b>PIEZA ENTERA (kg)</b>	10,76 ± 0,85	10,96 ± 1,26	10,08 ± 1,16
<b>HUESO (kg)</b>	2,00 <sup>a</sup> ± 0,19	1,87 <sup>ab</sup> ± 0,21	1,81 <sup>b</sup> ± 0,22
<b>GRASA (kg)</b>	0,67 <sup>a</sup> ± 0,28	0,78 <sup>ab</sup> ± 0,44	0,84 <sup>b</sup> ± 0,42
<b>PIEL (kg)</b>	0,64 ± 0,18	0,69 ± 0,31	0,55 ± 0,22
<b>MAZA (kg)</b>	1,81 ± 0,23	1,85 ± 0,29	1,68 ± 0,21
<b>CONTRAMAZA (kg)</b>	1,60 ± 0,20	1,64 ± 0,23	1,53 ± 0,24

Superíndices (a,b) distintos en la misma fila indican diferencias significativas para  $P < 0,05$

Se obtuvieron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre los tres cruces genéticos para las variables: peso de hueso y peso de grasa de depósito. Los pernils de la genética A se diferenciaron significativamente de los de la genética C por poseer mayor cantidad de hueso y menor cantidad de grasa de depósito, mientras que pernils de la genética B presentaron valores intermedios respecto a ambas variables.

### 2.2.2 pH y conductividad eléctrica

En la Tabla 2.2 aparecen los valores medios y las desviaciones estándar del pH a los 45 min y a las 24 h *post mortem* y de la conductividad eléctrica a las 24 h para los tres cruces genéticos estudiados.

Las medidas se realizaron en el músculo *Semimembranosus* ya que permite estimar mejor la calidad del pernil debido a que presenta características de calidad de carne intermedias a las presentadas por un músculo de mayor tendencia PSE como es el Recto femoral y las de otro de menor actividad glucolítica como es el Aductor (Bañón y col., 1996).

**Tabla 2.2** Valores medios y desviaciones estándar del pH a los 45 min y del pH y de la conductividad eléctrica (CE) a las 24 h *post mortem* medidos en el músculo *Semimembranosus* de los cruces genéticos A, B y C.

	<b>A</b> (n=17)	<b>B</b> (n=23)	<b>C</b> (n=20)
<b>pH 45 min</b>	6,16 ± 0,41	6,27 ± 0,33	6,26 ± 0,34
<b>pH 24 h</b>	5,58 ± 0,23	5,80 ± 0,26	5,73 ± 0,16
<b>CE 24 h (μS)</b>	7,56 ± 3,61	8,62 ± 2,99	7,68 ± 3,14

Los resultados fueron similares para los tres cruces genéticos.

La medida del pH a los 45 min después del sacrificio es muy útil para detectar carnes PSE (Smith y Wilson, 1978; Kallweit, 1981; Froystein, 1981; Chadwick y Kempster, 1983; Oliver y col., 1988). Transcurrido este tiempo, la disminución de los valores de pH en carnes PSE se considera significativa, lo cual repercute en los valores de conductividad eléctrica (CE) y dispersión interna de la luz (DIL) que también se pueden utilizar como criterios clasificadores. Se consideraron carnes PSE aquellas con un valor de pH<6 a los 45 min *post mortem* y CE>10 a las 24 h *post mortem* (Oliver y col., 1991).

Se pueden considerar carnes DFD aquellas que presentan un pH>6,2 a las 24 h *post mortem* (Zert y Polack, 1982; Guerrero y col., 1992; García, 1992; Chizzolini y col., 1993a; Garrido y col., 1994 y Bañón, 1995).

Siguiendo estos criterios de clasificación, solamente dos de las muestras analizadas se consideraron PSE: una de la genética A y otra de la genética B. No se clasificó ningún pernil como DFD.

Tibau (1996) encontró valores de pH a los 45 min *post mortem* similares a los obtenidos en este trabajo, en razas puras: 6,22 para Large White (LW), 6,23 para Landrace (LD) y 6,41 para Duroc (DU). Oliver y col. (1994) realizaron un estudio comparativo de cinco cruces genéticos comerciales y encontraron que el cruce DU x LD x LW (50:25:25), similar al cruce B de este estudio, proporcionó valores medios de pH=6,11 a los 45 min *post mortem* y pH= 5,71 y CE=5,22 a las 24 h *post mortem*, similares a los obtenidos en este estudio.

### **2.2.3 Análisis de la humedad, la grasa y la proteína mediante espectrofotometría de transmitancia en el infrarrojo cercano (NIT)**

En la Tabla 2.3 aparecen los valores medios y las desviaciones estándar de las determinaciones realizadas mediante NIT de los parámetros composicionales, efectuadas en los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris* de los pernils frescos de cada cruce genético a los 5 días *post mortem*.

Se encontraron diferencias significativas ( $P<0,05$ ) entre los valores medios de humedad de los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris*, siendo inferior para el primero. La localización más externa y el contacto con el aire del músculo *Semimembranosus* fueron las principales causas de la mayor desecación. Esta diferencia en la humedad ha sido señalada por otros autores (De Prado, 1988; Córdoba, 1990; Arnau, 1991).

No se encontraron diferencias significativas entre los tres cruces genéticos respecto al porcentaje de humedad.

Los valores de humedad obtenidos en este estudio coinciden con los encontrados por Arnau (1991), Toldrá y col. (1992b), Virgili y col. (1995, 1998b) y Monin y col. (1997) en sus análisis de pernils de cerdo blanco.

**Tabla 2.3** Valores medios y desviaciones estándar de los parámetros composicionales analizados mediante NIT de los músculos *Semimembranosus* (SM) y *Biceps femoris* (BF) correspondientes a los pernils frescos procedentes de las genéticas A, B y C.

		<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>
		(n=17)	(n=23)	(n=20)
<b>HUMEDAD (%)</b>	SM	74,00 ± 1,60	74,01 ± 1,79	73,05 ± 2,05
	BF	74,08 ± 1,12	74,48 ± 1,36	74,29 ± 1,89
<b>GRASA (%)</b>	SM	2,78 ± 1,21	3,08 ± 1,73	4,00 ± 1,71
	BF	2,87 ± 1,18	3,38 ± 1,42	3,20 ± 2,13
<b>PROTEINA (%)</b>	SM	22,13 ± 1,47	21,97 ± 0,89	22,08 ± 1,02
	BF	22,14 <sup>a</sup> ± 1,20	21,04 <sup>b</sup> ± 1,20	21,71 <sup>ab</sup> ± 1,57

Superíndices (a,b) distintos en la misma fila indican diferencias significativas para  $P < 0,05$

La cantidad de grasa intramuscular fue similar en los dos músculos analizados.

No se encontraron diferencias significativas respecto a la cantidad de grasa infiltrada entre los tres cruces genéticos. La genética C que había proporcionado pernils con mayor cantidad de grasa de depósito (Tabla 2.1) no proporcionó la mayor cantidad de grasa infiltrada.

Los valores medios de grasa infiltrada encontrados en este estudio están en concordancia con los obtenidos por otros autores, así, Virgili y col. (1998a) al comparar la cantidad de grasa intramuscular del músculo *Semimembranosus* de los pernils frescos procedentes de tres razas puras: Duroc (DU), Landrace (LD) y Large White (LW), encontraron que DU presentó la mayor cantidad de grasa infiltrada (5,30%) y LD la menor (2,97%). Virgili y col. (1998b) para el cruce LW x DU x LD (50:25:25) encontraron valores de 3,89% en el músculo *Semimembranosus*. Flores y col. (1985a) analizaron la grasa intramuscular en

muestras que contenían el magro de tres músculos: *Semimembranosus*, *Biceps femoris* y *Semitendinosus* de perniles procedentes de animales de padre Landrace Belga (LB) y madre Landrace (LD) x Large White (LW) obteniendo valores de 3,8%.

La cantidad de proteína fue similar en los dos músculos analizados.

En el músculo *Biceps femoris* se encontraron diferencias significativas entre las genéticas A y B, presentando la primera los valores más elevados del porcentaje de proteína.

La cantidad de proteína obtenida en este estudio coincide con los resultados en el análisis de perniles de cerdo blanco obtenidos por Astiasarán y col. (1988), Flores y col. (1985a) y con los de Virgili y col. (1995, 1998b).

#### 2.2.4 Determinación de la mioglobina

En la Tabla 2.4 aparecen los valores medios y las desviaciones estándar correspondientes al contenido en pigmentos hemo totales (mioglobina, hemoglobina y citocromo c) expresado en mg de mioglobina/g de muestra, en los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris* de los perniles frescos de cada cruce genético estudiado.

**Tabla 2.4** Valores medios y desviaciones estándar de la cantidad de pigmentos hemo totales expresados en mg de mioglobina/g de muestra para los músculos *Semimembranosus* (SM) y *Biceps femoris* (BF) de los cruces genéticos A, B y C.

		<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>
		(n=17)	(n=23)	(n=20)
<b>MIOGLOBINA (mg/g)</b>	SM	1,16 <sup>a</sup> ± 0,44	1,20 <sup>a</sup> ± 0,46	1,51 <sup>b</sup> ± 0,42
	BF	1,20 <sup>a</sup> ± 0,30	1,16 <sup>a</sup> ± 0,20	1,44 <sup>b</sup> ± 0,37

Superíndices (a,b) distintos en la misma fila indican diferencias significativas para P<0,05

La cantidad de pigmentos hemo totales, expresados como concentración de mioglobina, fue similar en los dos músculos analizados.

La genética C se diferenció significativamente ( $P < 0,05$ ) de las otras dos, obteniendo los valores de la concentración de pigmentos hemo más elevados en ambos músculos.

## 2.3 CONCLUSIONES

Genética A: 75% Duroc y 25% Landrace  
Genética B: 50% Duroc, 25% Landrace y 25% Large White  
Genética C: 75% Duroc y 25% Landrace

**1.-** Los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris* se diferencian significativamente en el porcentaje de humedad, resultando similares respecto a la cantidad de grasa, proteína y mioglobina.

**2.-** Los perniles de los cruces genéticos A, B y C resultan similares en la mayoría de los parámetros estudiados, observándose diferencias significativas en la cantidad de grasa de depósito y hueso del jamón (desfavorables para la genética A) y en la concentración de mioglobina (favorable para la genética C).



### **CAPÍTULO 3: DETERMINACIONES FÍSICO-QUÍMICAS, DE COLOR Y DE TEXTURA EN EL JAMÓN CURADO**

#### **3.0 INTRODUCCIÓN**

Se denomina jamón curado al producto cárnico elaborado mediante salazón en seco con posterior desecación, obtenido a partir de la extremidad posterior del cerdo seccionada por la sínfisis isquiopubiana, y que conserva sus huesos, músculos, tejido adiposo intramuscular, así como una porción variable de grasa de cobertura y piel.

La legislación española (B.O.E. 27/02/84) incluye al jamón curado en el grupo de las salazones dentro de los derivados cárnicos. Dicho grupo es definido como "... las carnes y productos de despiece no picados, sometidos a la acción adecuada de la sal común y demás ingredientes autorizados propios de la salazón, ya sea en forma sólida o salmuera, que garantice su conservación para el consumo. Se podría ampliar su proceso finalizando su elaboración mediante técnicas de adobado, secado y ahumado".

Recientemente, el Jamón Serrano ha obtenido la condición de Especialidad Tradicional Garantizada (ETG) con reserva de nombre (Diario Oficial de la Comunidad Europea 13/11/99). De esta forma se protege su elaboración tradicional y se asegura su calidad y cualidades, potenciando su comercialización como consecuencia de la mayor confianza del consumidor.

### 3.1 MATERIAL Y MÉTODOS

#### 3.1.2 Muestras

Se analizaron los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris* de los jamones curados durante 11 meses: 25 de la genética A, 34 de la genética B y 34 de la genética C (apartado 1.1).

#### 3.1.2 Métodos

Se analizaron los parámetros composicionales (humedad, grasa y proteína) y el contenido de sales (cloruro sódico, nitrito sódico y nitrato potásico), siguiendo los procedimientos descritos en los apartados 1.2.2, 1.2.3, 1.2.4, 1.2.6, 1.2.7 y 1.2.8, respectivamente, para el seguimiento de la evolución del curado. Se obtuvo un conjunto de datos para la posterior comparación con la valoración sensorial.

Los hemopigmentos, analizados como se describe en el apartado 1.3.2, aportaron información sobre la intensidad del color típico del curado, discutiéndose la influencia de la cantidad de mioglobina y de sales nitrificantes en el desarrollo del color.

La fuerza de resistencia al corte medida mediante el texturómetro Instron equipado con el accesorio de cizallamiento Warner-Bratzler (apartado 1.5) aportó información sobre la textura del jamón.

En el tratamiento estadístico de los datos se utilizó el Test de Student-Newman-Keuls y el Test de la t de Student para analizar la existencia de diferencias significativas entre los valores medios de tres y dos poblaciones, respectivamente (apartado 1.6).

## 3.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.2.1 Análisis de los parámetros composicionales

En la Tabla 3.1 aparecen los valores medios y las desviaciones estándar de los parámetros composicionales de los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris* de los jamones curados procedentes de los cruces genéticos A, B y C.

**Tabla 3.1** Valores medios y desviaciones estándar de los parámetros composicionales de los músculos *Semimembranosus* (SM) y *Biceps femoris* (BF) de los jamones curados pertenecientes a las genéticas A, B y C. El porcentaje de grasa y proteína se expresan en extracto seco (ES).

		<b>A</b> (n=25)	<b>B</b> (n=34)	<b>C</b> (n=34)
<b>HUMEDAD (%)</b>	SM	45,32 ± 3,04	43,86 ± 2,72	44,66 ± 4,52
	BF	59,66 ± 1,98	58,60 ± 1,98	59,60 ± 1,84
<b>GRASA (% ES)</b>	SM	12,49 ± 2,64	12,16 ± 3,51	12,69 ± 3,43
	BF	10,97 ± 3,89	12,84 ± 4,55	10,94 ± 4,76
<b>PROTEINA (% ES)</b>	SM	76,42 ± 2,92	75,48 ± 3,86	76,12 ± 4,02
	BF	72,07 <sup>a</sup> ± 2,92	69,01 <sup>b</sup> ± 3,66	70,59 <sup>ab</sup> ± 3,03

Superíndices (a,b) distintos en la misma fila indican diferencias significativas para  $P < 0,05$

Resulta difícil contrastar los resultados de los análisis de los parámetros composicionales obtenidos en este trabajo con los aportados por otros autores, ya que la proporción de la humedad, de la grasa y de la proteína dependen de la materia prima y la tecnología aplicada.

La humedad en el músculo *Semimembranosus* fue significativamente inferior ( $P < 0,05$ ) a la de *Biceps femoris*, lo cual se debe a la localización

anatómica de ambos músculos: el superficial (*Semimembranosus*) experimentó mayor desecación que el músculo profundo (*Biceps femoris*), que se encuentra recubierto con la grasa subcutánea y la piel que dificultan la salida de agua. Este gradiente de humedad que se origina en la pieza es necesario para que se produzca su secado paulatino. La diferencia de humedad entre los dos músculos ha sido descrita por otros autores en jamón de cerdo blanco (Pineda y Carrascosa, 1993), en jamón ibérico (León Crespo y col., 1986; De Prado, 1988; Córdoba y col., 1994; Martín, 1996) y en jamón de Parma (Valdés y col., 1982).

No se encontraron diferencias significativas en el contenido de humedad entre los tres cruces genéticos, coincidiendo con los resultados obtenidos por Guerrero y col. (1996) en el estudio de los jamones procedentes de tres líneas genéticas: Duroc (DU), Duroc (DU) x Large White (LW) y PI (Pietrain) x LB (Landrace Belga).

Toldrá y col. (1992b) y Gou y col. (1995) analizaron el músculo *Biceps femoris* de jamones de 8 meses de curado encontrando un valor medio de humedad de 63 y 57%, respectivamente. Monin y col. (1997) encontraron valores de humedad en jamón de Bayona con 8,5 meses de curado de 49,1% en el músculo *Semimembranosus* y 61,6% en el *Biceps femoris*. Virgili y col. (1998b) encontraron valores de 61,6% de humedad en el músculo *Biceps femoris* de jamones de Parma. Como puede apreciarse, existe una elevada variabilidad de resultados en función del proceso de curado utilizado. Los resultados obtenidos en nuestro estudio son similares a los encontrados por Guerrero y col. (1996) en jamones de cerdo blanco curados también durante 11 meses, presentando el músculo *Biceps femoris* una humedad media de 56,5%.

La grasa intramuscular es el parámetro composicional que sufre mayores oscilaciones entre los distintos tipos de jamones.

El porcentaje de grasa intramuscular referido a extracto seco fue similar en los dos músculos estudiados.

No se encontraron diferencias significativas entre los tres cruces genéticos respecto a su contenido de grasa intramuscular.

Virgili y col. (1998a) compararon la cantidad de grasa intramuscular del músculo *Biceps femoris* de jamones de Parma (13 meses) procedentes de tres razas puras: Duroc (DU), Landrace (LD) y Large White (LW). DU presentó mayor veteado (9,12%), mientras que LD apareció con menor cantidad de grasa infiltrada (5,38%). En nuestro estudio los valores medios del músculo *Biceps femoris* referidos a extracto húmedo de los tres cruces genéticos estuvieron comprendidos entre 4,44 y 5,36% en la genética A (75% DU) y la genética B (50% DU), respectivamente.

Flores y col. (1985a) analizaron la grasa infiltrada en el conjunto de músculos *Semimembranosus*, *Biceps femoris* y *Semitendinosus* en jamones 50% LW, 25% LD y 25% Landrace Belga (LB) con 12 meses de curado que siguieron dos procesos diferentes: condiciones de secadero natural y el procedimiento utilizado en la industria. Obtuvieron valores de 8,8% en curado natural y 11,6% en curado industrial, superiores a los trabajos citados anteriormente, lo que se debe a la extracción de la grasa alojada entre los distintos músculos (grasa intermuscular) junto con la intramuscular. Astiasarán y col. (1988) también analizaron cilindros que contenían el conjunto de los tres músculos citados anteriormente y encontraron valores de grasa del 6,6% para jamones de 6 meses de curado y 10,3% para piezas con 9 meses.

La cantidad de proteína fue significativamente ( $P < 0,05$ ) superior en el músculo *Semimembranosus* que en el *Biceps femoris*.

Se obtuvieron diferencias significativas entre los tres cruces genéticos respecto al porcentaje de proteína en el músculo *Biceps femoris*, que fue superior en la genética A e inferior en el cruce B, al igual que en los pernils frescos.

Los resultados obtenidos son comparables a los encontrados por Flores y col. (1985a) en jamón blanco, De Prado (1988) y Córdoba (1990) en jamón ibérico, Giolitti y col. (1971a,b) y Virgili y col. (1998a) en jamón de Parma.

### 3.2.2 Análisis de las sales

En la Tabla 3.2 aparecen los valores medios y las desviaciones estándar de la concentración de cloruro sódico, nitrito sódico y nitrato potásico residuales referidos a extracto seco en los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris* de los jamones curados de cada cruce genético estudiado.

**Tabla 3.2** Valores medios y desviaciones estándar del contenido en sales referido a extracto seco (ES) de los músculos *Semimembranosus* (SM) y *Biceps femoris* (BF) pertenecientes a los jamones curados de los cruces genéticos A, B y C.

		<b>A</b> (n=25)	<b>B</b> (n=34)	<b>C</b> (n=34)
<b>NaCl (% ES)</b>	SM	6,71 ± 1,01	7,31 ± 1,40	7,00 ± 0,98
	BF	11,14 ± 2,22	12,20 ± 1,77	11,78 ± 1,74
<b>NITRITO RESIDUAL (ppm NaNO<sub>2</sub> ES)</b>	SM	7,46 ± 1,73	5,59 ± 3,50	6,38 ± 3,78
	BF	7,19 ± 1,58	5,86 ± 3,16	6,18 ± 2,83
<b>NITRATO RESIDUAL (ppm KNO<sub>3</sub> ES)</b>	SM	111,21 <sup>a</sup> ± 15,08	133,74 <sup>b</sup> ± 19,35	130,56 <sup>b</sup> ± 18,17
	BF	157,98 <sup>a</sup> ± 14,40	180,59 <sup>b</sup> ± 28,24	174,43 <sup>ab</sup> ± 42,79

Superíndices (a,b) distintos en una misma fila indican diferencias significativas para P<0,05

Los valores medios de cloruro sódico referidos a extracto seco de los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris* fueron significativamente diferentes (P<0,05). El contenido de sal en el músculo *Biceps femoris* fue superior al encontrado en el músculo *Semimembranosus*, coincidiendo con los resultados obtenidos por Sárraga y col. (1993), Arnau y col. (1995), Monin y col. (1997), Córdoba (1990) y Martín (1996). Esto es debido a que la difusión de la sal se ve favorecida por el mayor contenido acuoso de los músculos profundos. Durante el proceso de curado la relación sal/agua tiende a igualarse entre las

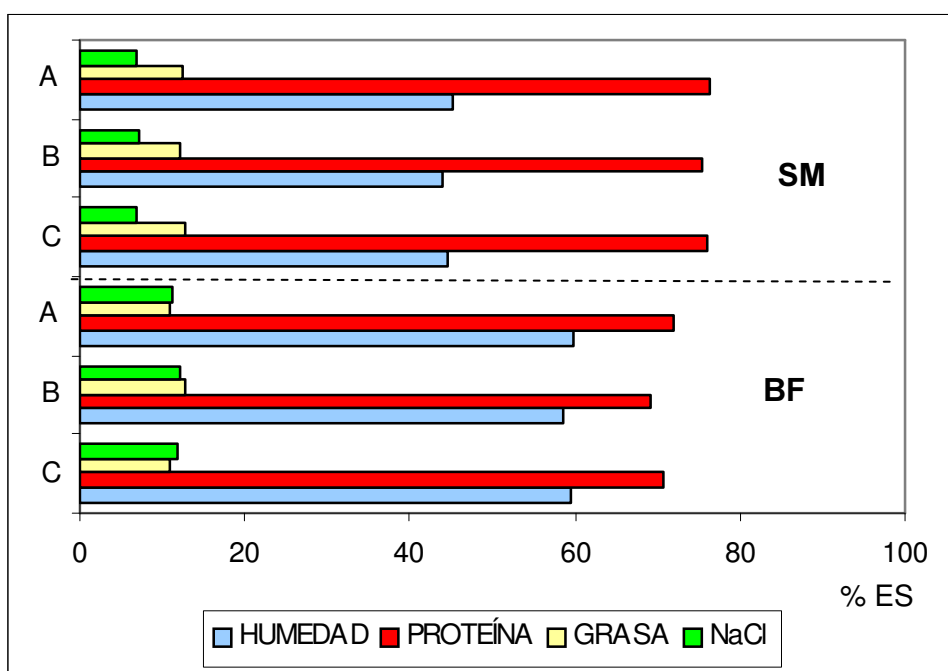
diferentes zonas del jamón, pero el equilibrio salino entre el músculo superficial y profundo no se llega a alcanzar (Arnau, 1993).

No se encontraron diferencias significativas entre los tres cruces genéticos para el porcentaje de NaCl en ninguno de los dos músculos analizados. Los valores de sal referidos a extracto seco están en concordancia con los encontrados en el análisis conjunto de los músculos *Semimembranosus*, *Biceps femoris* y *Semitendinosus* de jamones de cerdo blanco de 12 meses (Flores y col., 1985a) y 9 meses de curado (Astiasarán y col., 1988), con valores de 12,6 y 9,3%, respectivamente y son inferiores a los encontrados por Gou y col. (1995), Toldrá y col. (1992b) y Arnau (1991) en el músculo *Biceps femoris* de jamones de cerdo blanco de 8 meses de curado (20, 13,2 y 21,5%, respectivamente), lo que puede ser debido a que los mantuvieron en pilas de sal más tiempo que en este trabajo. Virgili y col. (1998b) obtuvieron un valor medio de 16,4% de NaCl (referido a extracto seco) para el músculo *Biceps femoris* de jamones de Parma procedentes de un cruce LW x DU x LD (50:25:25), valor superior a los encontrados en este estudio.

La cantidad residual de nitrito sódico fue similar en los dos músculos, en cambio, la de nitrato potásico fue superior en el músculo *Biceps femoris*, encontrándose diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre los valores medios de ambos músculos. Tanto el nitrito sódico como el nitrato potásico difunden junto con el cloruro sódico desde la superficie hasta el interior de la pieza. Los cloruros y los nitratos alcanzaron valores más elevados en el músculo más profundo; no ocurrió lo mismo con los nitritos, debido a la pérdida que experimentan durante su difusión en la masa muscular por la elevada reactividad que presentan con los componentes de la carne, formando complejos con la mioglobina, las proteínas, los lípidos, las sustancias reductoras (como los grupos -SH) y también pueden desaparecer en forma de gas ( $N_2$  o  $NO_x$ ) (Cassens y col., 1979). Por esta razón aparecen concentraciones tan pequeñas de nitrito sódico al final del proceso, mientras que la cantidad de nitrato potásico es más elevada.

Se encontraron diferencias significativas entre las genéticas en el contenido de nitrato potásico en los dos músculos estudiados, apareciendo el valor más bajo en la genética A. Los valores son similares a los obtenidos en otros trabajos en jamón de cerdo blanco (Pineda y Carrascosa, 1993; Arnau, 1991).

En la Figura 3.1 se representa gráficamente la composición en humedad, grasa, proteína y cloruro sódico expresados en extracto seco de los tres cruces genéticos en los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris*. En el músculo *Semimembranosus* se obtuvieron valores superiores de proteína e inferiores de humedad y NaCl que en el músculo *Biceps femoris*. El perfil de la composición es similar en las tres genéticas. No obstante, destaca el contenido de grasa ligeramente superior del músculo *Biceps femoris* para la genética B.



**Figura 3.1** Contenido en humedad, grasa, proteína y cloruro sódico expresados en extracto seco (ES) en los músculos *Semimembranosus* (SM) y *Biceps femoris* (BF) de los jamones correspondientes a los cruces genéticos A, B y C.



### 3.2.3 Análisis de los hemopigmentos

En el jamón curado, al igual que en todos los derivados cárnicos resultantes de la transformación de la carne mediante la acción del cloruro sódico y las sales nitrificantes, el principal responsable del color es el nitrosopigmento formado a partir de la reacción de la mioglobina con el óxido nítrico. Por consiguiente, el estudio químico de la formación del color implica la determinación de los nitrosopigmentos (NOP) formados y su porcentaje en relación con la cantidad de pigmentos totales (PT) existentes, los cuales comprenden los derivados de la hematina en todas sus formas.

La estabilidad de los pigmentos totales y la formación de nitrosomioglobina dependen de procesos microbiológicos, enzimáticos y químicos que están influidos por varios parámetros como el pH, el potencial redox, la concentración de las sales de curado, la temperatura y el contenido acuoso (Chasco y col., 1996).

La Tabla 3.3 recoge los valores medios, con sus correspondientes desviaciones estándar, del contenido de nitrosopigmentos y de pigmentos totales referidos a ppm de hematina en extracto seco y del índice de conversión, calculado como la relación porcentual de nitrosopigmentos respecto a pigmentos totales, obtenidos en los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris* de los jamones curados de cada cruce genético estudiado.

El contenido de nitrosopigmentos y pigmentos totales en el músculo *Semimembranosus* fue significativamente superior que en el *Biceps femoris*, lo que puede ser debido a la mayor concentración de sal del segundo, que disminuye la extracción de los pigmentos (Sakata y Nagata, 1992). El índice de conversión fue similar en los dos músculos, coincidiendo con los resultados obtenidos por Córdoba (1990).

**Tabla 3.3** Valores medios y desviaciones estándar del contenido de nitrosopigmentos (NOP) y de pigmentos totales (PT) referidos a ppm de hematina en extracto seco (ES) y del índice de conversión, calculados para los músculos *Semimembranosus* (SM) y *Biceps femoris* (BF) de los jamones pertenecientes a los cruces genéticos A, B y C.

		<b>A</b> (n=25)	<b>B</b> (n=34)	<b>C</b> (n=34)
<b>NOP (ppm hematina ES)</b>	SM	79,63 ± 7,48	78,17 ± 7,88	78,09 ± 8,25
	BF	77,25 ± 8,66	72,08 ± 8,98	75,39 ± 9,38
<b>PT (ppm hematina ES)</b>	SM	130,19 <sup>a</sup> ± 14,45	139,98 <sup>b</sup> ± 14,11	145,11 <sup>b</sup> ± 17,71
	BF	122,11 <sup>a</sup> ± 10,48	129,26 <sup>ab</sup> ± 15,40	135,76 <sup>b</sup> ± 14,33
<b>ÍNDICE DE CONVERSIÓN (%)</b>	SM	69,79 <sup>a</sup> ± 9,71	56,59 <sup>b</sup> ± 5,68	54,21 <sup>b</sup> ± 8,43
	BF	62,77 ± 10,42	56,72 ± 8,66	57,37 ± 11,22

Superíndices (a,b) distintos en la misma fila indican diferencias significativas para P<0,05

No se encontraron diferencias significativas (P<0,05) en el contenido de nitrosopigmentos entre los tres cruces genéticos, pero sí en el de pigmentos totales, donde la genética A mostró los valores más bajos en los dos músculos y la genética C los más elevados, mientras que la genética B obtuvo los valores intermedios en el músculo *Biceps femoris*. La genética A también se diferenció significativamente de los otros dos cruces por su menor cantidad de nitrato residual en el músculo *Semimembranosus*, mientras que la genética C lo hizo en el análisis de los perniles frescos por su mayor cantidad de mioglobina.

El índice de conversión fue superior para la genética A debido a su menor contenido en pigmentos totales diferenciándose significativamente (P<0,05) de las otras dos genéticas en el análisis del músculo *Semimembranosus*.

El contenido de nitrosopigmentos obtenido en este estudio es similar al encontrado por Astiasarán y col. (1988) en el análisis de jamones de 9 meses de curado. Estos autores obtuvieron menor cantidad de pigmentos totales.

### 3.2.4 Medida instrumental de la textura

Se utilizó una velocidad de desplazamiento del dispositivo Warner-Bratzler (WB) constante y se comprimió la muestra hasta su ruptura. En los ensayos de cizallamiento no se produce una acción exclusivamente de corte, ya que al comienzo de los mismos, la cuchilla comprime la superficie del alimento hasta la ruptura (similar a la masticación). Por tanto, la magnitud de la resistencia al corte está influida por la resistencia a la compresión y al cizallamiento.

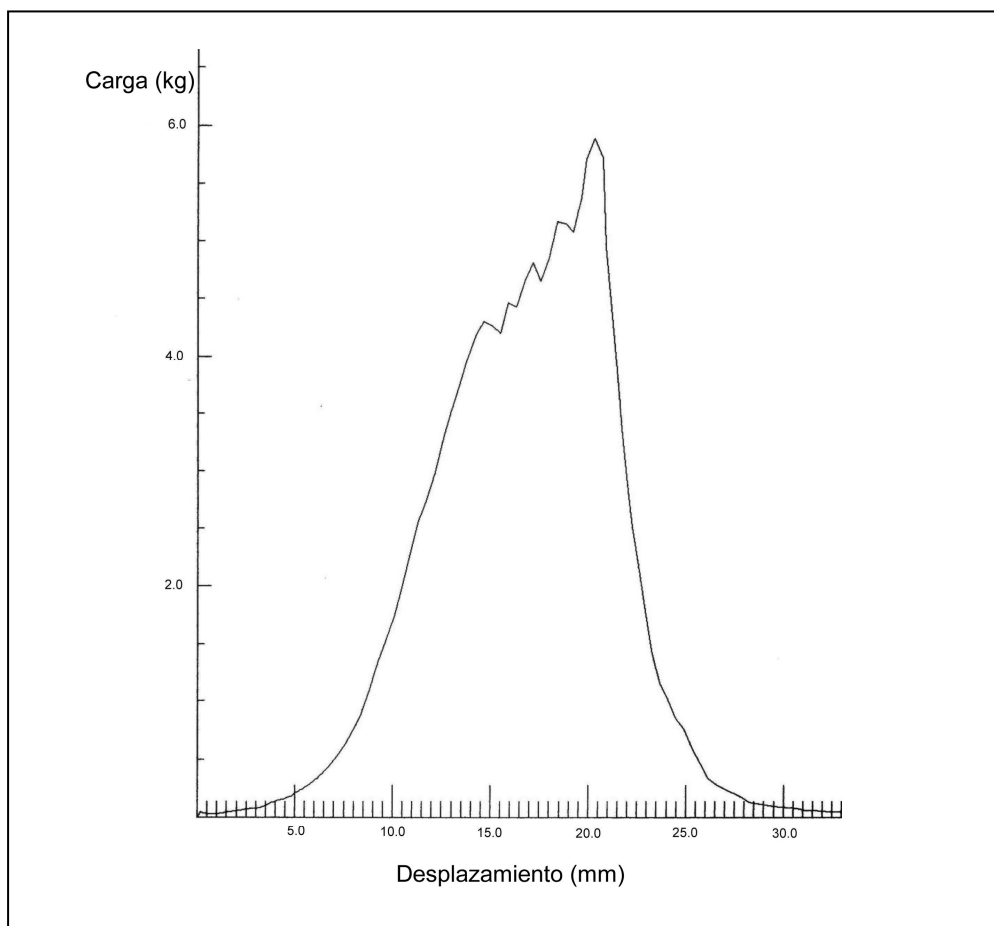
Se midió la fuerza máxima en carga máxima, o fuerza de resistencia al corte, expresada en kg. Los valores medios y las desviaciones estándar obtenidas para cada cruce genético aparecen en la Tabla 3.4.

**Tabla 3.4** Valores medios y desviaciones estándar de la fuerza máxima en carga máxima o fuerza de resistencia al corte (Fmax) expresada en kg, de los músculos *Semimembranosus* (SM) y *Biceps femoris* (BF) de los jamones correspondientes a los cruces genéticos A, B y C.

		<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>
		(n=25)	(n=30)	(n=30)
<b>Fmax (Kg)</b>	SM	6,84 ± 1,30	6,61 ± 1,51	6,11 ± 1,52
	BF	10,68 ± 2,00	9,79 ± 1,79	10,52 ± 2,40

En las Figuras 3.2 y 3.3 se muestran las gráficas de carga frente a desplazamiento características de los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris*. Las formas típicas de las gráficas que presentó cada músculo fueron

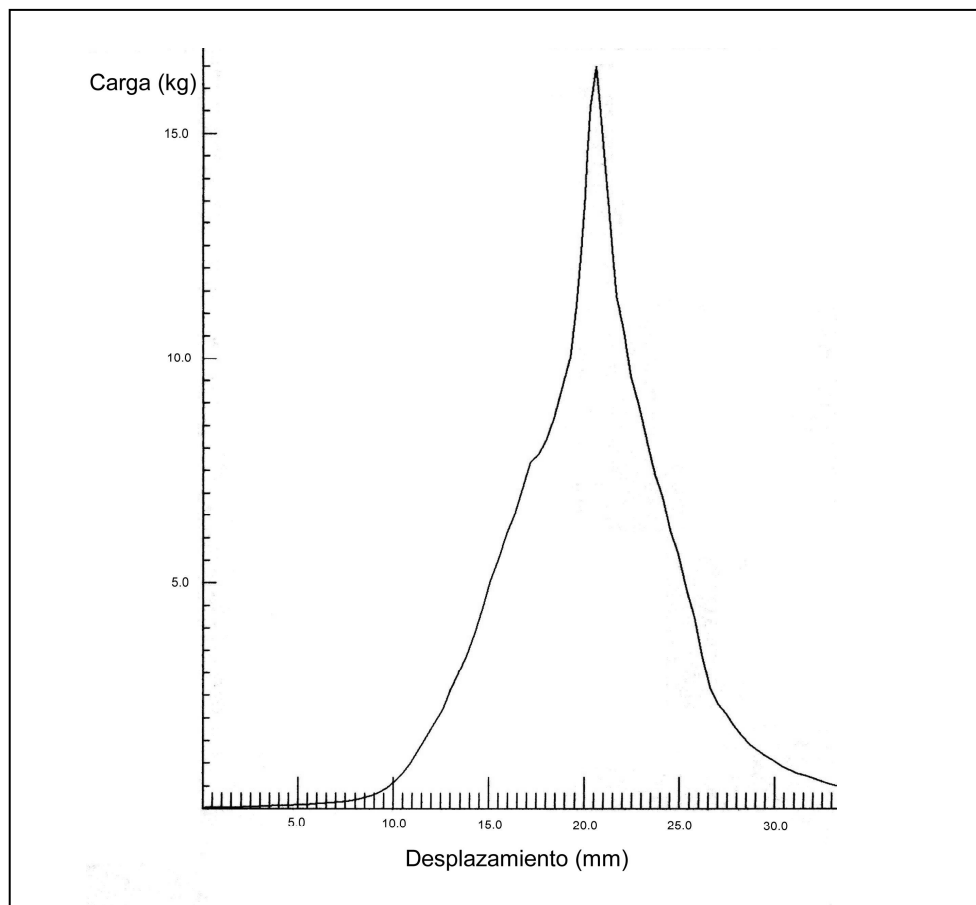
diferentes, en general: las del músculo *Semimembranosus* aparecieron con más de un pico de ruptura.



**Figura 3.2** Representación de la fuerza de resistencia al corte frente al desplazamiento correspondiente a una muestra del músculo *Semimembranosus* de un jamón curado.

La fuerza de resistencia al corte en el músculo *Biceps femoris* fue significativamente superior ( $P < 0,05$ ) que en el músculo *Semimembranosus*, lo cual puede ser atribuido a que el primero posee un menor porcentaje de elastina. Este aspecto, junto al tipo de fibra muscular y al tamaño de los haces musculares, se encuentran estrechamente relacionados con la dureza (Geir y col., 1988). Otros autores también encontraron mayor resistencia al corte en el

músculo *Biceps femoris* que en el *Semimembranosus*: Córdoba (1990) y De Prado (1988) en jamón ibérico, Kemp y col. (1974) en jamón americano y Monin y col. (1997) en jamón de Bayona.



**Figura 3.3** Representación de la fuerza de resistencia al corte frente al desplazamiento correspondiente a una muestra del músculo *Biceps femoris* de un jamón curado.

No se encontraron diferencias significativas, respecto a la fuerza de resistencia al corte, entre los tres cruces genéticos para ninguno de los dos músculos analizados.

Los resultados de la fuerza de resistencia al corte son similares a los encontrados por Peral y Pérez-Villareal (1999) en cubos de 1 cm<sup>3</sup> procedentes de jamones de 10 meses de curado.

### 3.3 COMPARACIÓN ENTRE EL PERNIL FRESCO Y EL JAMÓN CURADO RESPECTO A LOS PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS Y A LA DETERMINACIÓN DEL COLOR

Con objeto de aclarar lo que ocurre con los parámetros físico-químicos y los relacionados con el color al terminar el curado, en las Tablas 3.5, 3.6 y 3.7 se resumen los valores medios obtenidos para cada parámetro analizado en los perniles frescos a los 5 días *post mortem* y en los jamones curados de 11 meses, para los cruces genéticos A, B y C. En estas tablas también aparece el resultado de aplicar el Test de la t de Student y la variación del valor ( $\Delta$ ) de cada variable entre el jamón curado y el perril fresco.

**Tabla 3.5** Comparación de los resultados de los parámetros composicionales y relacionados con el color para los jamones frescos y curados de la genética A.

	<i>Semimembranosus</i>			<i>Biceps femoris</i>		
	FRESCO	CURADO	$\Delta$	FRESCO	CURADO	$\Delta$
<b>HUMEDAD (%)</b>	74,00 <sup>a</sup>	45,32 <sup>b</sup>	-28,68	74,08 <sup>a</sup>	59,66 <sup>b</sup>	-14,42
<b>GRASA (% ES)</b>	10,89	12,49	1,60	10,99	10,97	-0,02
<b>PROTEÍNA (% ES)</b>	85,20 <sup>a</sup>	76,42 <sup>b</sup>	-8,78	85,52 <sup>a</sup>	72,07 <sup>b</sup>	-13,45
<b>HEMATINA (ppm ES)</b>	130,10	130,19	0,09	125,06	122,11	-2,95

Superíndices (a,b) distintos en la misma fila y para el mismo músculo indican diferencias significativas para  $P < 0,05$

**Tabla 3.6** Comparación de los resultados de los parámetros composicionales y relacionados con el color para los jamones frescos y curados de la genética B.

	<i>Semimembranosus</i>			<i>Biceps femoris</i>		
	FRESCO	CURADO	$\Delta$	FRESCO	CURADO	$\Delta$
<b>HUMEDAD (%)</b>	74,01 <sup>a</sup>	43,86 <sup>b</sup>	-30,15	74,48 <sup>a</sup>	58,60 <sup>b</sup>	-15,88
<b>GRASA (% ES)</b>	11,51	12,16	0,65	13,08	12,84	-0,24
<b>PROTEÍNA (%ES)</b>	84,96 <sup>a</sup>	75,48 <sup>b</sup>	-9,48	82,63 <sup>a</sup>	69,01 <sup>b</sup>	-13,62
<b>HEMATINA (ppm ES)</b>	138,05	139,98	1,93	129,74	129,26	-0,48

Superíndices (a,b) distintos en la misma fila y para el mismo músculo indican diferencias significativas para  $P < 0,05$

**Tabla 3.7** Comparación de los resultados de los parámetros composicionales y relacionados con el color para los jamones frescos y curados de la genética C.

	<i>Semimembranosus</i>			<i>Biceps femoris</i>		
	FRESCO	CURADO	$\Delta$	FRESCO	CURADO	$\Delta$
<b>HUMEDAD (%)</b>	73,05 <sup>a</sup>	44,66 <sup>b</sup>	-28,39	74,29 <sup>a</sup>	59,60 <sup>b</sup>	-14,69
<b>GRASA (% ES)</b>	14,19	12,69	-1,5	12,05	10,94	-1,11
<b>PROTEÍNA (% ES)</b>	82,39 <sup>a</sup>	76,12 <sup>b</sup>	-6,27	84,92 <sup>a</sup>	70,59 <sup>b</sup>	-14,33
<b>HEMATINA (ppm ES)</b>	146,64	145,11	-1,53	143,73	135,76	-7,97

Superíndices (a,b) distintos en la misma fila y para el mismo músculo indican diferencias significativas para  $P < 0,05$

Durante el proceso de curado los jamones sufrieron una disminución de la humedad desde 73-74,5% del pernil fresco hasta 58,6-59,7% en el músculo *Biceps femoris* y 43,9-44,7% en el *Semimembranosus* del jamón curado. La pérdida de agua se debió al efecto osmótico ocasionado por la entrada de la sal en la pieza y a la desecación por el progresivo aumento de la temperatura

ambiental y disminución de la humedad relativa durante el curado. El músculo *Semimembranosus* perdió el doble de humedad que el *Biceps femoris*, ya que estuvo en contacto directo con el aire.

El porcentaje de grasa experimentó poca variación al terminar el curado respecto a los valores en el pernil fresco.

La cantidad de proteína referida a extracto seco descendió durante el proceso de curado desde 82,4-85,5% de los perniles, hasta 69-76,4% de los jamones curados. En el músculo *Biceps femoris* la disminución del porcentaje de proteína fue superior que para el *Semimembranosus*.

La cantidad de hematina (grupo hemo) total presente en el pernil se conservó hasta el final del curado.

### 3.4 CONCLUSIONES

Genética A: 75% Duroc y 25% Landrace  
Genética B: 50% Duroc, 25% Landrace y 25% Large White  
Genética C: 75% Duroc y 25% Landrace

**1.-** El curado ocasiona cambios en el jamón en cuanto a los parámetros composicionales, algunos de los cuales afectan de diferente forma a los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris*. Así, el músculo *Semimembranosus* experimenta mayor pérdida de humedad. En cambio, la cantidad total de hematina (grupo hemo) no se modifica a lo largo del proceso.

**2.-** Una vez terminado el curado, los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris* resultan significativamente diferentes para la mayoría de las variables estudiadas: humedad, proteína, cloruro sódico, nitrato potásico, nitrosopigmentos, pigmentos totales y fuerza de resistencia al corte; sin embargo, ambos músculos son similares en cuanto al contenido en grasa, la cantidad de nitrito sódico y el índice de conversión (nitrosopigmentos/pigmentos totales x 100).



**3.-** Los jamones procedentes de los tres cruces genéticos muestran pequeñas diferencias en la cantidad de proteína que resulta superior en el cruce genético A e inferior en el cruce genético B en el músculo *Biceps femoris*; la cantidad de nitrato potásico y de pigmentos totales que son inferiores en el cruce genético A en ambos músculos y el índice de conversión que es superior en el músculo *Semimembranosus* de este cruce.

## **CAPÍTULO 4: PROTEOLISIS EN EL JAMÓN**

### **4.0 INTRODUCCIÓN**

Durante el curado del jamón se producen reacciones de proteolisis catalizadas por proteasas de origen endógeno principalmente. Como consecuencia se produce la degradación de las proteínas sarcoplasmáticas y miofibrilares y el aumento del nitrógeno no proteico.

Las principales enzimas responsables de la proteolisis en el jamón son proteasas lisosomales, fundamentalmente la catepsinas B, L, H y D. Toldrá y col. (1993) señalaron que las catepsinas B y L influyen más en la proteolisis que la catepsina H (que posee escasa actividad aminopeptidásica) y la catepsina D (que sólo es estable durante los primeros meses de curado).

### **4.1 MATERIAL Y MÉTODOS**

#### **4.1.1 Muestras**

En el pernil fresco, se determinó la actividad enzimática de las catepsinas B+L en los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris* de los 17 pernils de la genética A, los 23 de la genética B y los 20 de la genética C, a los que se habían analizado los parámetros fisico-químicos básicos y los relacionados con el color.

En el jamón curado, se determinó la actividad enzimática de las catepsinas B+L y la cantidad de nitrógeno no proteico en los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris* de los 20 jamones de cada cruce genético a los que se habían analizado: las sales, los parámetros composicionales y los índices de color y textura.

La electroforesis desnaturante en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) se efectuó en los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris* de 6 pernils frescos y 6 jamones curados de cada cruce genético, elegidos al azar entre el conjunto de muestras a las que se analizaron todos los parámetros físico-químicos, los relacionados con el color y la textura, la actividad enzimática de las catepsinas B+L y la cantidad de nitrógeno no proteico (apartado 1.1).

#### 4.1.2 Métodos

Se analizó la actividad enzimática de las catepsinas B+L siguiendo el procedimiento descrito en el apartado 1.4.1, con la finalidad de relacionar la actividad inicial con la actividad residual y con el desarrollo de la proteolisis.

Se utilizó como índice de proteolisis el nitrógeno no proteico, analizado según el apartado 1.4.2.

La electroforesis desnaturante en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE), realizada según el apartado 1.4.3, reveló el estado de las diferentes proteínas en la carne fresca y en el jamón curado, así como las modificaciones experimentadas por las mismas durante el curado.

Se aplicaron los métodos estadísticos siguientes: el Test de Student-Newman-Keuls (para analizar la existencia de diferencias significativas entre los valores medios de los tres cruces genéticos obtenidos en los análisis de la actividad enzimática y del nitrógeno no proteico), el Test de la Mínima Diferencia Significativa (para analizar la existencia de diferencias significativas entre los valores medios de las densidades relativas de los polipéptidos obtenidos a partir de la electroforesis en gel de poliacrilamida para los tres cruces genéticos) y el Test de la t de Student (para analizar la existencia de diferencias significativas entre los valores medios obtenidos para los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris* en cada una de las variables y entre la actividad de las catepsinas B+L de los jamones frescos y curados) (apartado 1.6).

## 4.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.2.1 Actividad enzimática de las catepsinas B+L en los perniles frescos

En la Tabla 4.1 aparecen los valores medios y las desviaciones estándar de la actividad enzimática de las catepsinas B+L en las muestras de los perniles frescos, expresada en miliunidades de actividad enzimática (mU)/g de muestra.

**Tabla 4.1** Valores medios y desviaciones estándar de la actividad enzimática de las catepsinas B+L expresada en mU/g de muestra para los músculos *Semimembranosus* (SM) y *Biceps femoris* (BF) de los perniles frescos pertenecientes a los cruces genéticos A, B y C.

		A (n=17)	B (n=23)	C (n=20)
<b>ACTIVIDAD CATEPSINAS B+L (mU/g)</b>	SM	41,37 ± 13,1	36,16 ± 9,46	34,46 ± 8,32
	BF	32,64 ± 7,74	31,06 ± 6,58	31,21 ± 4,58

Se encontró una gran variabilidad de la actividad enzimática entre las muestras analizadas, situándose los coeficientes de variación aproximadamente en el 25% (la repetibilidad, expresada como coeficiente de variación en el procedimiento de determinación de la actividad de las catepsinas B+L, fue 7%). Estos coeficientes son del mismo orden que los descritos por Virgili y col. (1998a,b) que fueron del 26,6% en el músculo *Semimembranosus*.

Se encontró mayor actividad enzimática en el músculo *Semimembranosus* que en el *Biceps femoris*, obteniéndose diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre ambos músculos. Se obtuvo una correlación significativa entre la actividad enzimática existente en los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris* ( $r = 0,641$ ,  $P < 0,001$ ).

No se encontraron diferencias significativas entre los tres cruces genéticos respecto a la actividad de las catepsinas B+L.

Varios autores han analizado la actividad enzimática en carne de cerdo almacenada durante menos tiempo que en nuestro estudio y encontraron valores inferiores a los descritos en este trabajo. Así, Flores y col. (1994) obtuvieron 4,1 mU/g en el músculo *Biceps femoris* a las 12 h *post mortem*; Virgili y col. (1998a), 7,9 mU/g en el músculo *Semimembranosus* a los 2 días *post mortem* y Etherington y col. (1987), 16,8 mU/g en el músculo *Pectoralis profundus* a los 30 min *post mortem*. Sin embargo, en el análisis del músculo *Longissimus dorsi* a los 7 días *post mortem*, Toldrá y Etherington (1988) y Gil y col. (1998) encontraron valores superiores, 660 y 441 mU/g, respectivamente, y Koomarie y col. (1991) obtuvieron 105,2 mU/g a 1 día *post mortem*.

Hortós y col. (1994) señalaron que la actividad catepsínica dependía de la muestra estudiada y no del tiempo de almacenamiento de la carne a 4°C. Según estos autores la ruptura de la membrana lisosomal ocurre durante los primeros momentos *post mortem*, quedando libres las catepsinas y no se producen modificaciones de la actividad enzimática al aumentar el tiempo de almacenamiento de la carne. No obstante, Gil y col. (1998) obtuvieron variación de la actividad de las catepsinas B+L con el tiempo de almacenamiento, ésta disminuyó ligeramente desde 1 hasta 7 días y recuperó los valores iniciales a los 14 días, por lo que concluyeron que la actividad catepsínica dependía principalmente de la variabilidad aportada por la muestra, más que de su tiempo de almacenamiento.

Las catepsinas B+L permanecen activas durante el proceso de curado (Toldrá y Etherington, 1988; Toldrá y col., 1993), por tanto, la calidad final del jamón dependerá del contenido inicial de enzimas.

#### **4.2.2 Electroforesis desnaturalizante en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) de las fracciones proteicas de los pernils frescos**

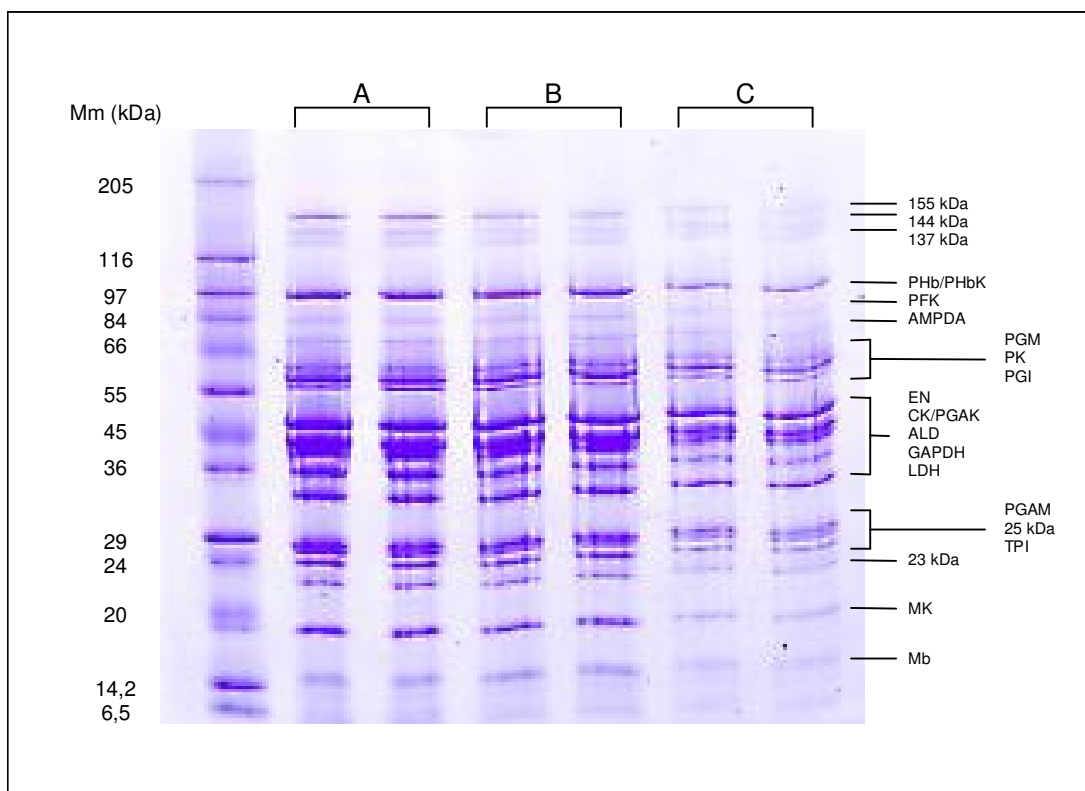
##### **a) Proteínas extraídas en tampón de baja fuerza iónica (sarcoplasmáticas)**

En la Figura 4.1 se muestra el electroforegrama de las proteínas extraídas en tampón de baja fuerza iónica (sarcoplasmáticas) del músculo *Semimembranosus* de tres pernils de cada cruce genético (A, B y C) por duplicado.

En la Figura 4.2 aparece el densitograma correspondiente a una de las muestras del gel presentado en la Figura 4.1.

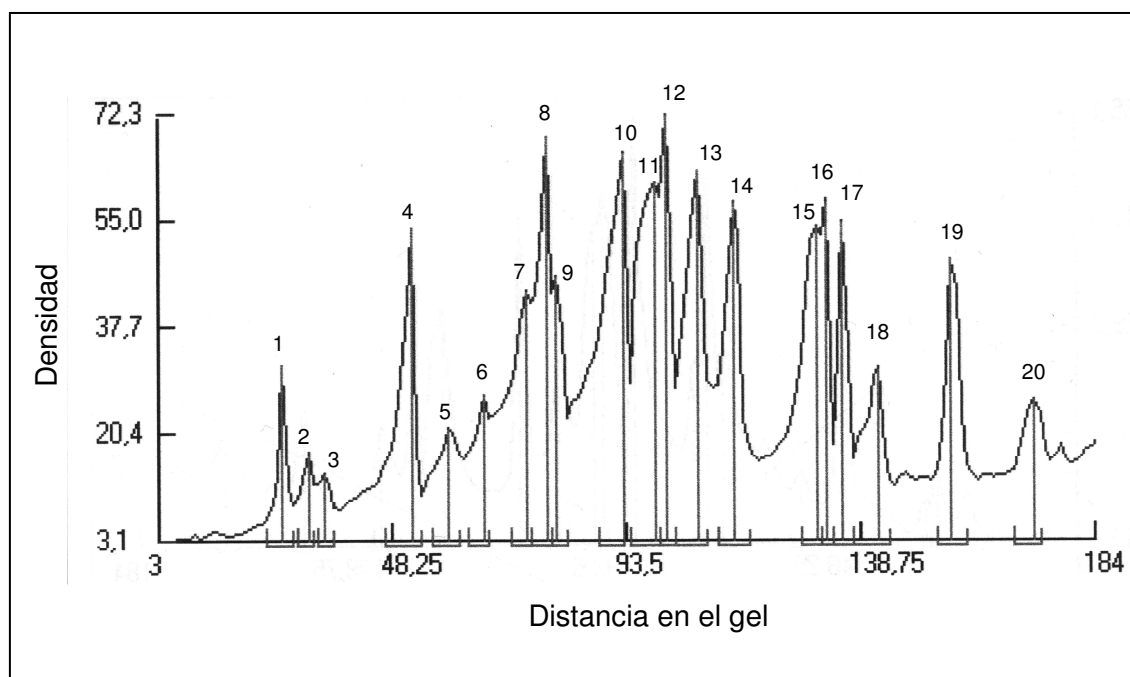
Las bandas electroforéticas coincidieron con las identificadas en los trabajos de Savage y col. (1990) en un extracto del músculo *Longissimus dorsi* de cerdo y con las descritas por McCormick y col. (1988) en el análisis del mismo músculo a las 24 h *post mortem*. En el sistema utilizado por Savage y col. (1990), similar al empleado en este estudio, las proteínas creatina kinasa (CK) y fosfoglicerato kinasa (PGAK), y el par fosforilasa b (PHb) y fosforilasa b kinasa (PHbK), migraron juntas y no se logró su separación.

Los tres cruces genéticos estudiados mostraron un perfil electroforético similar, aunque varió ligeramente entre los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris*. Los fragmentos proteicos correspondientes a los pesos moleculares de 155, 144, 137, 11 y 10 kDa aparecieron solamente en algunas de las muestras del músculo *Semimembranosus*, por lo que no se consideraron al aplicar el tratamiento estadístico. En el músculo *Biceps femoris* se descartaron por la misma razón los fragmentos de 140, 137, 71 y 10 kDa.



**Figura 4.1** Electroforegrama de las proteínas extraídas en tampón de baja fuerza iónica (sarcoplasmáticas) del músculo *Semimembranosus* de pernils frescos correspondientes a los cruces genéticos A, B y C analizados por duplicado. PHb: fosforilasa b; PHbK: fosforilasa b kinasa; PFK: fosfofructo kinasa; AMPDA: AMP desaminasa; PGM: fosfogluco mutasa; PK: piruvato kinasa; PGI: fosfoglucosa isomerasa; EN: enolasa; CK: creatina kinasa; PGAK: fosfoglicerato kinasa; ALD: aldolasa; GAPDH: gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa; LDH: lactato deshidrogenasa; PGAM: fosfoglicerato mutasa; TPI: triosafosfato isomerasa; MK: miokinasa y Mb: mioglobina.

Los fragmentos proteicos de 155, 149, 144, 140 y 137 kDa poseen un peso molecular demasiado elevado para ser considerados como subunidades de proteínas sarcoplasmáticas. Pueden ser grupos de proteínas sarcoplasmáticas no disociadas totalmente o fragmentos provenientes de las miofibrillas (Savage y col., 1990).



**Figura 4.2** Densitograma de las proteínas extraídas en tampón de baja fuerza iónica (sarcoplasmáticas) del músculo *Semimembranosus* de un pernil. Las bandas densitométricas han sido asignadas como: 1: 155 kDa; 2: 144 kDa; 3: 137 kDa; 4: fosforilasa b/fosforilasa b kinasa; 5: fosfofructo kinasa; 6: AMP desaminasa; 7: fosfogluco mutasa; 8: piruvato kinasa; 9: fosfoglucosa isomerasa; 10: enolasa; 11: creatina kinasa/fosfoglicerato kinasa; 12: aldolasa; 13: gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa; 14: lactato deshidrogenasa; 15: fosfoglicerato mutasa; 16: 25 kDa; 17: triosafosfato isomerasa; 18: 23 kDa; 19: miokinasa y 20: mioglobina.

La Tabla 4.2 recoge los valores medios y las desviaciones estándar correspondientes a la densidad relativa de las bandas electroforéticas que aparecieron en todas las muestras analizadas en los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris* para cada cruce genético.



**Tabla 4.2** Valores medios y desviaciones estándar de la densidad relativa (%) de las bandas electroforéticas correspondientes a las proteínas extraídas en tampón de baja fuerza iónica (sarcoplasmáticas) de los pernils frescos de las genéticas A, B y C para los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris*.

Banda electroforética	<u><i>Semimembranosus</i></u>			<u><i>Biceps femoris</i></u>		
	A (n=6)	B (n=6)	C (n=6)	A (n=6)	B (n=6)	C (n=6)
149 kDa	-	-	-	0,75 ± 0,32	1,38 ± 1,36	0,92 ± 0,58
Fosforilasa b/fosforilasa b kinasa	6,79 <sup>ab</sup> ± 1,77	5,20 <sup>a</sup> ± 1,54	7,53 <sup>b</sup> ± 1,61	6,73 <sup>ab</sup> ± 1,65	5,34 <sup>a</sup> ± 1,30	7,16 <sup>b</sup> ± 0,94
Fosfofructo kinasa	1,06 ± 0,45	1,66 ± 0,68	1,45 ± 0,58	1,50 ± 0,83	1,41 ± 0,97	0,86 ± 0,53
AMP desaminasa	1,40 ± 0,41	1,78 ± 1,06	1,87 ± 0,27	1,50 ± 0,25	1,80 ± 0,93	1,49 ± 0,39
Fosfogluco mutasa	4,22 ± 1,30	3,74 ± 0,46	3,77 ± 0,73	5,79 <sup>a</sup> ± 1,84	4,82 <sup>ab</sup> ± 1,42	3,66 <sup>b</sup> ± 1,11
Piruvato kinasa	6,97 <sup>ab</sup> ± 1,14	7,30 <sup>a</sup> ± 1,74	5,77 <sup>b</sup> ± 0,60	5,14 ± 1,97	6,68 ± 1,24	6,31 ± 1,22
Fosfoglucosa isomerasa	3,13 ± 0,48	3,92 ± 1,08	3,40 ± 0,32	8,98 ± 6,27	4,56 ± 2,44	4,32 ± 0,69
Enolasa	12,83 ± 2,89	13,97 ± 4,21	11,41 ± 2,53	13,12 ± 3,26	13,55 ± 3,46	12,28 ± 1,42
Creatina kinasa/fosfoglicerato kinasa	14,63 ± 1,08	15,59 ± 4,24	13,40 ± 2,67	10,66 <sup>a</sup> ± 4,87	13,75 <sup>ab</sup> ± 5,89	16,70 <sup>b</sup> ± 2,68
Aldolasa	6,43 ± 1,16	6,87 ± 1,69	6,54 ± 0,90	6,78 ± 2,54	6,19 ± 2,03	6,02 ± 2,17
Gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa	8,20 ± 3,05	8,01 ± 3,60	9,70 ± 2,86	7,74 ± 1,55	7,23 ± 2,60	8,99 ± 2,70
Lactato deshidrogenasa	6,99 ± 0,80	7,83 ± 1,29	7,24 ± 1,23	6,51 ± 2,09	6,63 ± 1,07	6,68 ± 0,77
Fosfoglicerato mutasa	5,20 ± 1,50	7,15 ± 1,36	6,75 ± 2,06	4,10 <sup>a</sup> ± 0,83	7,11 <sup>b</sup> ± 1,35	4,93 <sup>a</sup> ± 1,89
25 kDa	3,64 ± 0,91	3,11 ± 0,64	2,81 ± 0,27	3,97 ± 0,46	2,84 ± 1,68	2,94 ± 0,90
Triosafosfato isomerasa	3,90 <sup>a</sup> ± 0,67	2,49 <sup>b</sup> ± 1,70	3,93 <sup>a</sup> ± 0,69	2,29 ± 1,70	3,88 ± 1,53	2,93 ± 1,48
23 kDa	0,86 ± 0,26	2,35 ± 2,2	1,35 ± 0,14	1,53 ± 0,74	0,84 ± 0,62	1,27 ± 1,07
Miokinasa	2,04 ± 0,40	2,48 ± 1,20	2,36 ± 0,42	3,69 ± 2,25	2,07 ± 1,22	2,41 ± 0,56
Mioglobina	5,09 ± 2,01	4,27 ± 1,54	5,45 ± 0,78	3,96 <sup>a</sup> ± 1,78	4,20 <sup>a</sup> ± 0,91	5,83 <sup>b</sup> ± 1,72
12 kDa	3,21 ± 1,10	2,11 ± 0,97	3,01 ± 0,95	1,66 ± 1,18	2,76 ± 0,96	2,36 ± 0,75

Superíndices (a,b) distintos en cada fila indican diferencias significativas para P<0,05

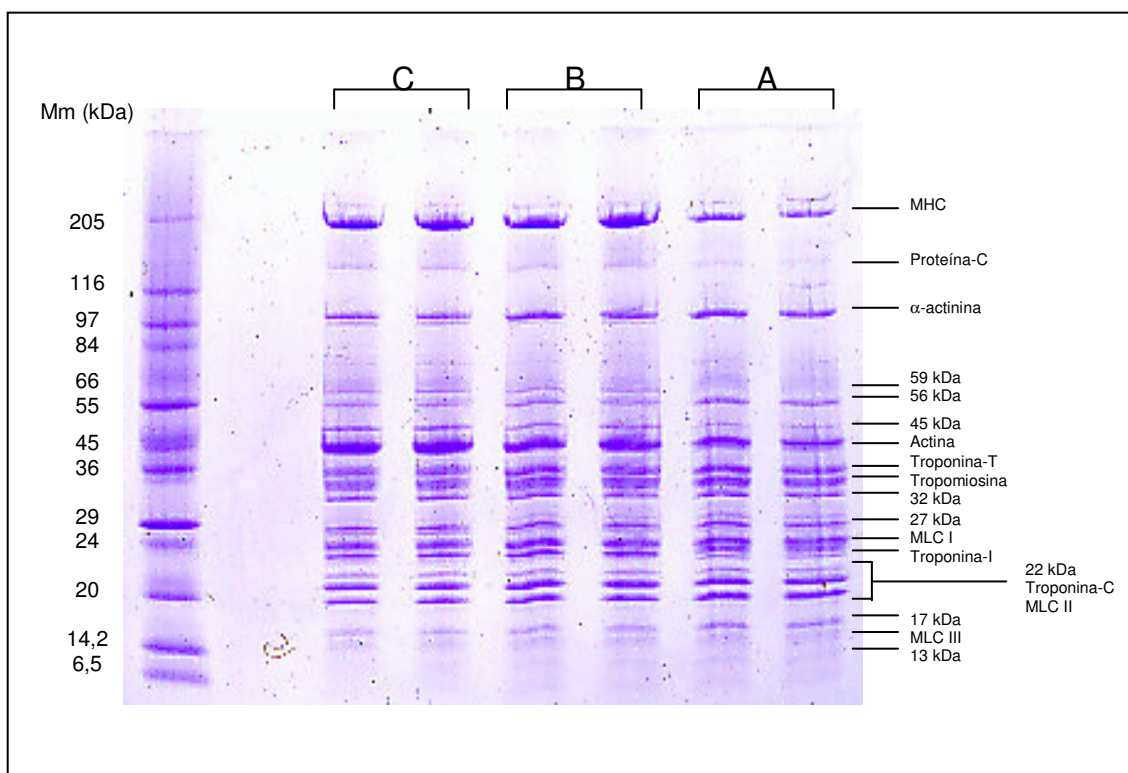
El par de proteínas creatina kinasa (CK) y fosfoglicerato kinasa (PGAK) presentó la mayor densidad relativa en los tres cruces genéticos, lo que coincide con los resultados obtenidos por Savage y col. (1990). Otras bandas mayoritarias en los dos músculos fueron: enolasa (EN), gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH), lactato deshidrogenasa (LDH) y aldolasa (ALD), coincidiendo con Savage y col. (1990).

Tanto en el músculo *Semimembranosus* como en el *Biceps femoris* se encontraron diferencias significativas respecto a la banda correspondiente a las proteínas fosforilasa b y fosforilasa b kinasa (PHb/PHbK), siendo mayor la densidad relativa en la genética C y menor en la genética B. En el músculo *Semimembranosus* también aparecieron diferencias significativas en las proteínas piruvato kinasa (PK) y triosafosfato isomerasa (TPI), esta última proporcionó un valor medio inferior para la genética B en relación a las otras dos. Por otro lado, en el músculo *Biceps femoris* también se encontraron valores significativamente diferentes para fosfogluco mutasa (PGM), creatina kinasa/fosfoglicerato kinasa (CK/PGAK), fosfoglicerato mutasa (PGAM) (que distinguió a la genética B de las otras dos) y mioglobina (Mb) que distinguió a la genética C. Tanto en el análisis espectrofotométrico (Tabla 2.4) como en el electroforético realizado en el músculo *Biceps femoris*, la mioglobina presentó el valor superior en la genética C.

#### **b) Proteínas extraídas en tampón de elevada fuerza iónica (miofibrilares)**

En la Figura 4.3 se muestra el electroforegrama de las proteínas extraídas en tampón fosfato 0,1 M y KI 1,1 M (miofibrilares) del músculo *Biceps femoris* de algunos pernils frescos. Se presenta una muestra de cada cruce genético analizada por duplicado. El perfil electroforético es similar en los tres cruces genéticos, tanto en el músculo *Semimembranosus* como en el *Biceps femoris*. Los fragmentos proteicos miofibrilares fueron similares en los dos músculos, solamente se diferenciaron en tres bandas correspondientes a los pesos moleculares: 99 kDa, que apareció en 2 muestras del músculo

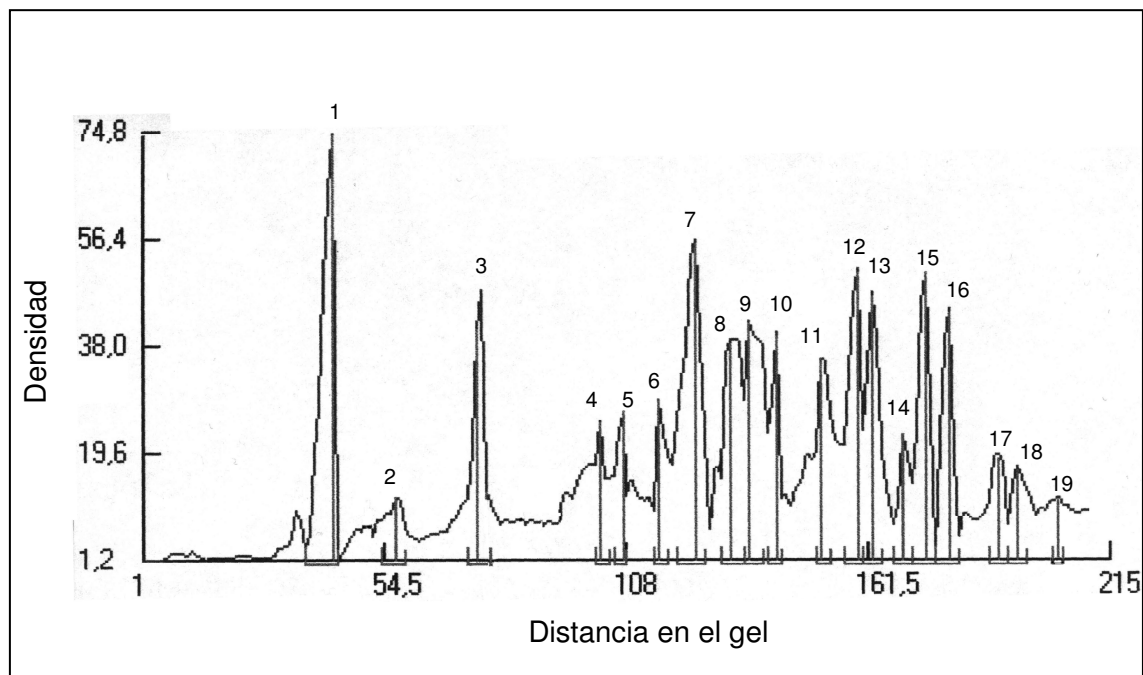
*Semimembranosus* y 91 y 27 kDa, que se encontraron en 2 y 3 muestras, respectivamente, del músculo *Biceps femoris*.



**Figura 4.3** Electroforegrama de las proteínas extraídas en tampón fosfato 0,1 M y KI 1,1M (miofibrilares) procedentes del músculo *Biceps femoris* de pernils frescos de los cruces genéticos A, B y C analizados por duplicado. MHC: miosina de cadena pesada; MLC I: miosina de cadena ligera I; MLC II: miosina de cadena ligera II; MLC III: miosina de cadena ligera III.

En la Figura 4.4 se presenta el densitograma correspondiente una muestra extraída con tampón fosfato 0,1 M y KI 1,1 M del músculo *Biceps femoris* de un pernil.

Las bandas electroforéticas identificadas en este estudio coincidieron con las encontradas por otros autores (Tabla 4.3).



**Figura 4.4** Densitograma de las proteínas extraídas en tampón fosfato 0,1 M y KI 1,1M (miofibrilares) procedentes del músculo *Biceps femoris* de un pernil. Las bandas densitométricas aparecen identificadas: 1: miosina de cadena pesada, 2: proteína-C, 3:  $\alpha$ -actinina, 4: 59 kDa, 5: 56 kDa, 6: 45 kDa, 7: actina, 8: troponina-T, 9: tropomiosina, 10: 32kDa, 11: 27 kDa, 12: miosina de cadena ligera I, 13: troponina-I, 14: 22 kDa, 15: troponina-C, 16: miosina de cadena ligera II, 17: 17 kDa, 18: miosina de cadena ligera III, 19: 13 kDa.

En la Tabla 4.4 aparecen los valores medios y las desviaciones estándar de la densidad relativa de cada banda electroforética para los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris* de los pernils frescos de los tres cruces genéticos estudiados.

La proteína-C (140 kDa) apareció en el 60% de las muestras analizadas con una densidad relativa muy baja. La proteína no identificada correspondiente a 59 kDa no se encontró en el 50% de las muestras del músculo *Semimembranosus*, en cambio sí se determinó en todas las del músculo *Biceps femoris* analizadas, aunque con intensidades relativas bajas.

Tampoco se incluyeron en el tratamiento estadístico las proteínas de 99, 91, 70 y 27 kDa, que solamente aparecieron en algunas de las muestras analizadas y con densidades relativas muy bajas.

**Tabla 4.3** Identificación de las bandas electroforéticas correspondientes a las proteínas miofibrilares.

Mm (kDa)	PROTEÍNA	REFERENCIA
200	Miosina de cadena pesada	Porzio y Pearson (1977); Claeys y col. (1995)
140	Proteína-C	Porzio y Pearson (1977); Penny (1984); Salm y col. (1983); Córdoba y col. (1994)
102	$\alpha$ -actinina	Porzio y Pearson (1977)
70		Córdoba y col. (1994)
59		Hortós y col. (1994)
42	Actina	Iversen (1995); Monin y col. (1997)
37	Troponina-T	Porzio y Pearson (1977)
35	Tropomiosina	Weber y Osborn (1969); Porzio y Pearson (1977)
32		Negishi y col. (1996)
25	Miosina de cadena ligera I	Porzio y Pearson (1977)
24	Troponina-I	Porzio y Pearson (1977)
20	Troponina-C	Porzio y Pearson (1977)
18	Miosina de cadena ligera II	Porzio y Pearson (1977)
17		Córdoba (1990)
15	Miosina de cadena ligera III	Porzio y Pearson (1977)

**Tabla 4.4** Valores medios y desviaciones estándar de la densidad relativa (%) de las bandas electroforéticas correspondientes a las proteínas extraídas en tampón fosfato 0,1 M y KI 1,1 M (miofibrilares) de los pernils frescos de las genéticas A, B y C para los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris*.

Banda electroforética	<u><i>Semimembranosus</i></u>			<u><i>Biceps femoris</i></u>		
	A (n=6)	B (n=6)	C (n=6)	A (n=6)	B (n=6)	C (n=6)
Miosina cadena pesada (200 kDa)	2,06 <sup>a</sup> ± 2,98	4,42 <sup>ab</sup> ± 2,11	6,25 <sup>b</sup> ± 3,69	3,45 <sup>a</sup> ± 3,04	8,72 <sup>b</sup> ± 3,22	7,16 <sup>ab</sup> ± 4,11
α-Actinina (102 kDa)	7,09 ± 0,84	7,19 ± 0,57	6,64 ± 1,68	4,47 <sup>a</sup> ± 1,07	5,99 <sup>b</sup> ± 1,00	7,20 <sup>b</sup> ± 1,28
59 kDa	-	-	-	1,85 <sup>a</sup> ± 0,63	3,73 <sup>b</sup> ± 0,34	4,36 <sup>b</sup> ± 0,81
56 kDa	4,91 ± 1,16	4,55 ± 0,66	4,30 ± 0,49	3,21 <sup>a</sup> ± 1,00	4,36 <sup>ab</sup> ± 1,25	4,73 <sup>b</sup> ± 0,80
Actina (41 kDa)	5,72 ± 2,66	6,19 ± 2,54	8,24 ± 2,35	7,22 ± 4,12	9,93 ± 1,57	8,39 ± 1,94
Troponina-T (37 kDa)	8,37 ± 2,87	7,67 ± 2,46	7,64 ± 1,00	9,60 <sup>a</sup> ± 2,43	6,83 <sup>b</sup> ± 0,89	8,59 <sup>ab</sup> ± 1,01
Tropomiosina (35 kDa)	11,15 <sup>a</sup> ± 2,70	8,58 <sup>b</sup> ± 1,93	9,24 <sup>ab</sup> ± 1,34	10,04 ± 3,75	7,60 ± 0,97	7,81 ± 2,45
32 kDa	6,60 ± 1,49	5,71 ± 1,22	5,41 ± 1,23	3,93 ± 1,12	4,49 ± 0,47	4,74 ± 1,52
Miosina de cadena ligera I (25 kDa)	5,03 <sup>a</sup> ± 2,05	7,55 <sup>b</sup> ± 1,60	6,09 <sup>ab</sup> ± 2,44	4,41 ± 3,16	5,27 ± 1,97	5,61 ± 2,61
Troponina-I 24 kDa	10,31 <sup>a</sup> ± 2,42	7,65 <sup>b</sup> ± 0,77	8,24 <sup>ab</sup> ± 1,84	9,57 <sup>a</sup> ± 1,01	6,84 <sup>b</sup> ± 0,50	7,75 <sup>ab</sup> ± 3,39
22 kDa	8,44 <sup>a</sup> ± 2,66	6,46 <sup>ab</sup> ± 1,50	5,45 <sup>b</sup> ± 1,67	7,47 ± 2,72	6,22 ± 1,00	5,60 ± 1,83
Troponina-C (20 kDa)	3,19 ± 1,20	3,48 ± 0,91	3,14 ± 0,91	2,83 ± 1,67	2,85 ± 0,41	3,88 ± 1,78
Miosina de cadena ligera II (18 kDa)	9,52 <sup>a</sup> ± 3,08	4,62 <sup>b</sup> ± 2,09	6,85 <sup>ab</sup> ± 1,99	8,82 <sup>a</sup> ± 1,85	6,64 <sup>b</sup> ± 0,60	6,14 <sup>b</sup> ± 0,91
17 kDa	8,31 ± 1,62	7,77 ± 2,39	7,13 ± 1,31	10,19 <sup>a</sup> ± 2,09	6,06 <sup>b</sup> ± 0,67	7,01 <sup>b</sup> ± 1,23
Miosina de cadena ligera III (15 kDa)	4,57 ± 1,38	5,30 ± 1,78	4,51 ± 0,94	3,75 ± 0,54	3,31 ± 0,68	3,57 ± 1,14
13 kDa	3,24 ± 1,42	3,50 ± 0,90	3,10 ± 0,56	3,24 ± 0,74	2,34 ± 0,55	3,06 ± 1,20

Superíndices (a,b) distintos en la misma fila indican diferencias significativas para P<0,05

Tanto en el músculo *Semimembranosus* como en el *Biceps femoris* se encontraron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre los tres cruces genéticos respecto a la miosina de cadena pesada (200 kDa), cuya intensidad relativa fue inferior para la genética A en ambos músculos. También fueron diferentes significativamente la troponina-I (24kDa) y la miosina de cadena ligera II (18 kDa), ambas presentaron mayor intensidad relativa en la genética A y menor en B.

En el músculo *Semimembranosus* se encontraron valores significativamente diferentes para la tropomiosina (35 kDa), la miosina de cadena ligera I (25 kDa) y el fragmento de 22 kDa. En este músculo la mayoría de las proteínas con intensidades relativas significativamente diferentes presentaron valores superiores para la genética A que para la genética B, presentando la genética C las intensidades intermedias, excepto en el caso de la miosina de cadena pesada y la miosina de cadena ligera I, que fueron inferiores para la genética A.

En general, en el músculo *Biceps femoris* las proteínas de masa molecular más elevada que diferencian a los tres cruces genéticos: 200 (miosina de cadena pesada), 102 ( $\alpha$ -actinina), 59 y 56 kDa, mostraron valores inferiores para la genética A, en cambio, las de masa molecular más baja: 37 (troponina-T), 24 (troponina-I), 18 (miosina de cadena ligera II) y 17 kDa, presentaron los valores más elevados para esta genética. Por tanto, se podría pensar que la genética A experimentó una mayor proteólisis a los 5 días *post mortem* que los otros dos cruces genéticos, debido a su menor cantidad de proteínas de elevado peso molecular y mayor cantidad de proteínas de peso molecular más bajo, fenómeno que fue más acusado en el músculo *Biceps femoris*.

La banda correspondiente a 30 kDa se considera un indicador del tiempo de almacenamiento de la carne y un producto de degradación de la troponina-T (Olson y col., 1977; Ouali y col., 1983; Ouali 1990; Uytterhaegen y col., 1992). Negishi y col. (1996) encontraron a los 10 días *post mortem* en carne de ternera una banda de 32 kDa (similar a la obtenida en este estudio) que aumentó con el tiempo de almacenamiento hasta los 31 días, concluyeron que se correspondía

con la de 30 kDa de otros estudios. Otro indicador del almacenamiento de la carne es la desaparición de la troponina-T, la cual es degradada por las calpaínas (Smulder y col., 1995); Negishi y col. (1996) observaron su desaparición a los 24 días de almacenamiento de carne de bovino.

Negishi y col. (1996) y Ouali y col. (1983) comprobaron la aparición de bandas en el rango de 25-34 kDa con el tiempo *post mortem* en carne de ternera. Hortós y col. (1994) observaron la aparición de tres bandas en el rango 28-32 kDa a los 7 días *post mortem* en el músculo *Longissimus dorsi* de cerdo. También encontraron la aparición de una doble banda en extractos musculares incubados con calpaínas en la región de 60 kDa a 1 día *post mortem*. En este estudio, hemos encontrado fragmentos de 59, 56 y 32 kDa después de 5 días de almacenamiento de los perniles frescos.

#### **4.2.3 Actividad enzimática de las catepsinas B+L en los jamones curados**

Se calculó la actividad de las catepsinas B+L en mU de actividad enzimática/g de muestra referida a extracto seco y en mU/g de proteína calculada siguiendo el procedimiento de Biuret (apartado 1.4.1). La Tabla 4.5 recoge los valores medios y las desviaciones estándar de ambas variables medidas en los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris* de los jamones curados procedentes de cada cruce genético.

La actividad de las catepsinas B+L fue significativamente superior ( $P<0,05$ ) en el músculo *Semimembranosus* que en el *Biceps femoris*, al igual que en los perniles frescos. Este fenómeno también puede atribuirse al efecto inhibidor del NaCl sobre las enzimas (Sárraga y col, 1989), cuya concentración fue más elevada en el músculo *Biceps femoris*.

Se encontraron diferencias significativas ( $P<0,05$ ) entre los tres cruces genéticos en el músculo *Biceps femoris*. La genética A obtuvo el valor medio más elevado y la genética C el más bajo.



**Tabla 4.5** Valores medios y desviaciones estándar de la actividad enzimática de las catepsinas B+L expresada en mU/g referida a extracto seco y mU/g proteína (o Actividad Específica) correspondientes a los músculos *Semimembranosus* (SM) y *Biceps femoris* (BF) de los jamones curados pertenecientes a los cruces genéticos A, B y C.

		<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>
		(n=20)	(n=20)	(n=20)
<b>ACTIVIDAD CATEPSINAS B+L</b> (mU/g ES)	SM	1,67 ± 0,84	1,48 ± 0,92	1,44 ± 0,96
	BF	1,56 <sup>a</sup> ± 0,61	1,23 <sup>ab</sup> ± 0,81	0,85 <sup>b</sup> ± 0,40
<b>ACTIVIDAD ESPECÍFICA</b> (mU/g proteína)	SM	0,076 ± 0,046	0,066 ± 0,041	0,064 ± 0,044
	BF	0,048 <sup>a</sup> ± 0,016	0,036 <sup>ab</sup> ± 0,016	0,025 <sup>b</sup> ± 0,014

Superíndices (a,b) distintos en la misma fila indican diferencias significativas para P<0,05

Los resultados de actividad específica fueron ligeramente superiores a los encontrados por Sárraga y col. (1993) en jamones de cerdo blanco de 12,5 meses de curado: 0,04 mU/g proteína en el músculo *Semimembranosus* y 0,035 mU/g proteína en el músculo *Biceps femoris*.

#### 4.2.4 Nitrógeno no proteico en los jamones curados

En la Tabla 4.6 aparecen los valores medios y las desviaciones estándar de la concentración del nitrógeno no proteico (NNP) expresado en mg/g de muestra referido a extracto seco y el porcentaje de NNP referido a nitrógeno total (índice de proteolisis), en los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris* de los jamones curados de cada cruce genético.

El contenido neto de NNP en el músculo depende del balance entre su producción mediante la proteolisis, su transferencia por difusión dentro de la masa muscular y sus pérdidas por la degradación de aminoácidos (desaminación y/o transformación de aminoácidos en compuestos volátiles). Estos fenómenos están afectados por la cantidad de sal, de humedad y el valor del pH (Baldini y

Raczynski, 1978; Sárraga y col., 1989; Sárraga, 1992; Toldrá 1992; Hortós, 1995).

**Tabla 4.6** Valores medios y desviaciones estándar de la concentración del nitrógeno no proteico (NNP) expresados en mg/g referido a extracto seco (ES) y del índice de proteolisis en los músculos *Semimembranosus* (SM) y *Biceps femoris* (BF) de los jamones curados correspondientes a los cruces genéticos A, B y C.

		<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>
		(n=20)	(n=20)	(n=20)
<b>NNP (mg/g ES)</b>	SM	23,68 ± 4,34	20,77 ± 2,72	22,29 ± 4,68
	BF	33,18 ± 4,23	31,56 ± 3,55	30,79 ± 4,23
<b>ÍNDICE DE PROTEOLISIS (NNP/NT x 100)</b>	SM	19,42 ± 3,71	18,22 ± 5,08	18,20 ± 3,79
	BF	29,15 ± 3,47	29,05 ± 2,99	26,95 ± 3,38

El contenido de NNP fue significativamente superior ( $P < 0,05$ ) en el músculo *Biceps femoris*. Esta variación puede deberse a la difusión que experimentan los compuestos nitrogenados de baja masa molecular que se dirigen desde el músculo *Semimembranosus* hasta el *Biceps femoris*, es decir, a favor del gradiente de humedad. Otros autores también han señalado la misma variación entre los dos músculos, así, Martín (1996) encontró en jamón ibérico valores de 27,1 y 34,91 mg de NNP (referidos a extracto seco) en el músculo *Semimembranosus* y en el *Biceps femoris*, respectivamente. Monin y col. (1997) encontraron en jamones de cerdo blanco con 8,4 meses de curado, índices de proteolisis de 15,8% en el músculo *Semimembranosus* y 17,6% en el músculo *Biceps femoris*, inferiores a los encontrados en nuestro estudio debido probablemente a la diferencia en el tiempo de curado.

Los resultados obtenidos en este trabajo concuerdan con los encontrados por Flores y col. (1985a) en el análisis del conjunto de los músculos

*Semimembranosus*, *Biceps femoris* y *Semitendinosus* de jamones de cerdo blanco con 12 meses de curado, que obtuvieron valores del índice de proteolisis del 27%, cantidad similar a la encontrada por Virgili y col. (1995) en jamones de 6,5 y de 9 meses de curado.

Virgili y col. (1998b) obtuvieron un valor medio del índice de proteolisis de 29,8% en el músculo *Biceps femoris* de jamones de Parma, procedentes de animales LW x DU x LD (50:25:25), similar a los resultados de este estudio.

Virgili y col. (1998a) determinaron los valores de NNP del músculo *Biceps femoris* de 6 tipos de jamones europeos con diferente contenido salino y tiempo de curado. En general, el NNP aumentó al incrementarse el tiempo de curado y encontraron una correlación negativa ( $r=-0,61$ ) respecto a la concentración de NaCl en un rango de 3,3-15% de NaCl, en cambio, dicha correlación no se dio dentro de cada tipo de jamón, debido a la reducción del rango de variación de la concentración de NaCl y del tiempo de curado de los jamones. Por otro lado, Córdoba y col. (1994) no encontraron correlación entre las dos variables para un rango de concentración de sal 1,5-6%. En este estudio tampoco se encontró correlación habiendo utilizado jamones que siguieron un proceso idéntico con una concentración de sal de 2,6-6,7% (referida a extracto húmedo).

El aumento de la temperatura al final del secado y durante el estufaje puede provocar el aumento de la proteolisis, ya que estimula la actividad de ciertas enzimas, como la catepsina D, que tiene actividad máxima a 33-53 °C (Rico y col., 1990) y permanece activa después de 8 meses de curado (Toldrá y Etherington, 1988). Las catepsinas B, H y L permanecen activas durante procesos de 15 meses (Toldrá y col, 1993). Otros autores también encontraron un efecto de la temperatura sobre la actividad proteolítica en jamón ibérico (De Prado, 1988; Córdoba y col., 1994; Martín, 1996) y en jamón de Parma (Parolari y col., 1985). En jamón de cerdo blanco, Flores y col. (1984) encontraron mayor cantidad de NNP al aumentar las temperaturas del proceso a 28-30 °C, respecto a jamones con etapas de secado-maduración a temperaturas entre 18-22 °C.

Virgili y col. (1995) encontraron relación entre una elevada concentración de NNP con bajos niveles de sal, alta actividad de catepsina B y una elevada temperatura.

#### **4.2.5 Electroforesis desnaturalizante en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) de las fracciones proteicas de los jamones de 11 meses de curado**

##### **a) Proteínas extraídas en tampón de baja fuerza iónica (sarcoplasmáticas)**

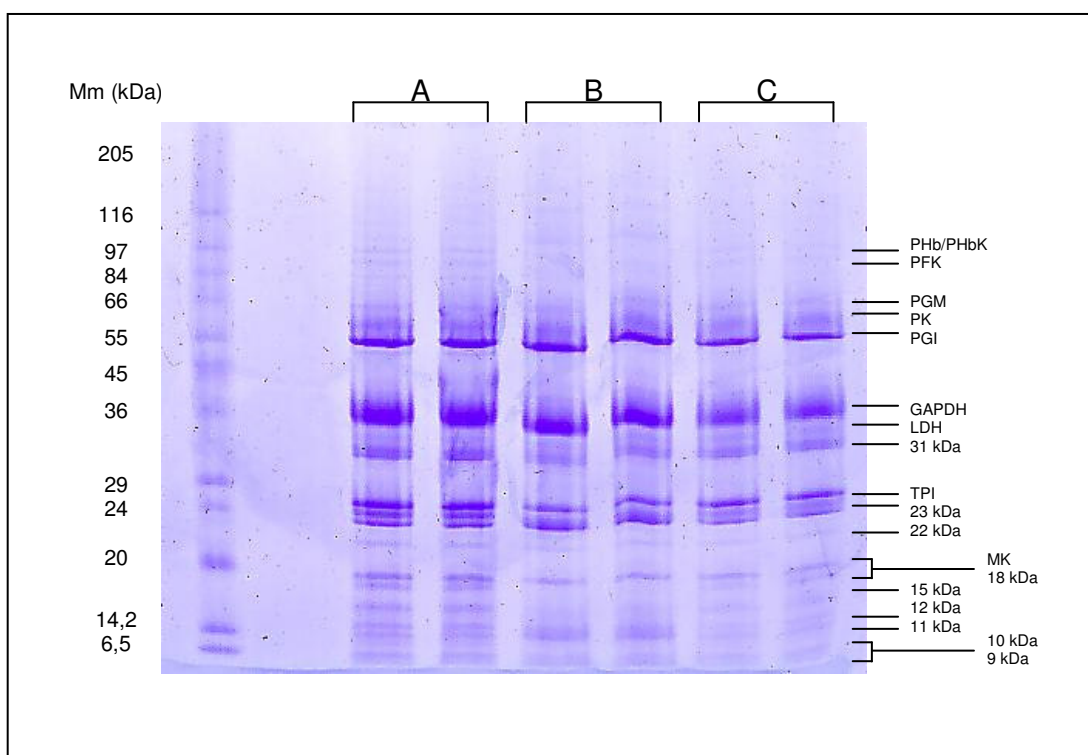
En la Figura 4.5 se muestra el electroforegrama de las proteínas extraídas en tampón de baja fuerza iónica (sarcoplasmáticas) del músculo *Biceps femoris* de jamones correspondientes a los tres cruces genéticos estudiados. Se presenta una muestra de cada genética analizada por duplicado.

En la Figura 4.6 aparece el densitograma de una de las muestras analizadas.

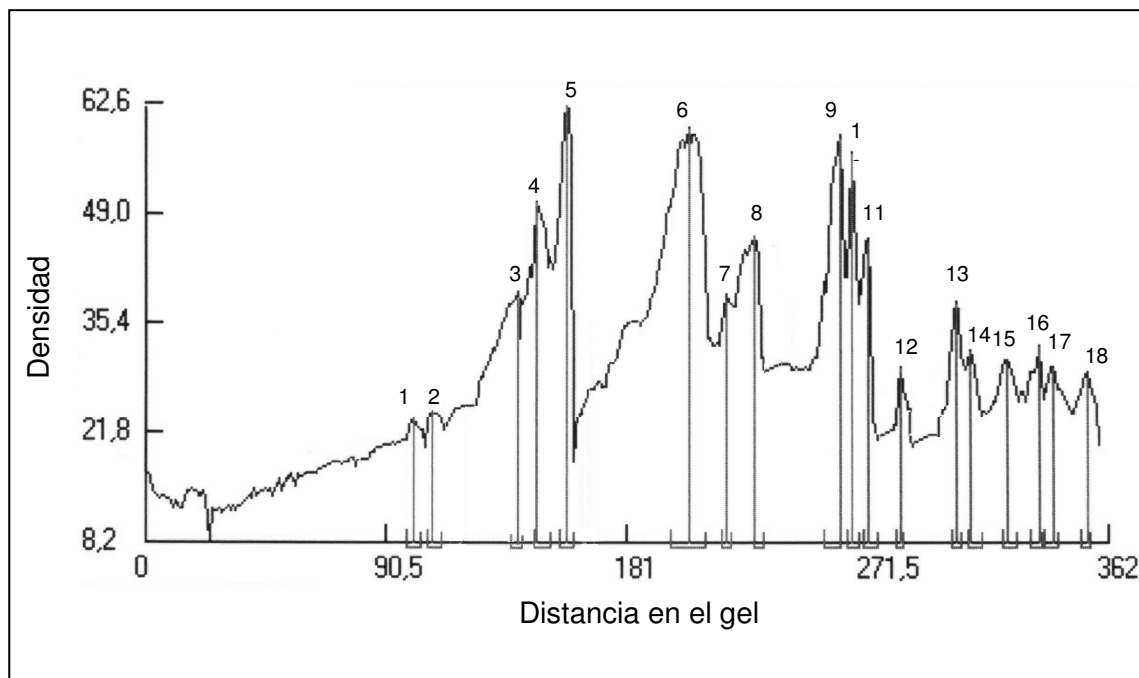
En la Tabla 4.7 se muestran las densidades relativas medias y las desviaciones estándar de los fragmentos proteicos encontrados en todas las muestras del músculo *Semimembranosus* y del *Biceps femoris* en los tres cruces genéticos estudiados.

El perfil electroforético fue diferente en función del músculo y de la muestra analizada, respecto a los fragmentos proteicos de elevada masa molecular: las bandas correspondientes a 149, 140, 112, 100, fosforilasa b/fosforilasa b kinasa (PHb/PHbK) y fosfofructo kinasa (PFK) aparecieron en algunas muestras del músculo *Semimembranosus* y las de masa molecular 137, 124, 112, 104, fosforilasa b/fosforilasa b kinasa (PHb/PHbK), fosfofructo kinasa (PFK) y AMP desaminasa (AMPDA) lo hicieron en algunas del *Biceps femoris*, presentando densidades relativas muy bajas en todos los casos. Todos estos fragmentos no se incluyeron en el tratamiento estadístico por aparecer solamente en algunas de las muestras analizadas. En cambio, el perfil resultó similar respecto a los fragmentos de pesos moleculares inferiores a 66 kDa (fosfogluco mutasa). La

fosfogluco mutasa (PGM) apareció en el 72% de las muestras del músculo *Semimembranosus* y en todas las del músculo *Biceps femoris*. La creatina kinasa (CK) y la aldolasa (ALD) aparecieron en el 83 y 39% respectivamente, de las muestras del músculo *Semimembranosus* analizadas y no se encontraron en ninguna del músculo *Biceps femoris*. También se diferenciaron en los fragmentos de baja masa molecular lactato deshidrogenasa (LDH), 22 y 12 kDa que aparecieron en el 11, 61 y 67%, respectivamente, de las muestras del músculo *Semimembranosus* analizadas y, en cambio, se encontraron en todas las del músculo *Biceps femoris*.



**Figura 4.5** Electroforegrama de las proteínas extraídas en tampón de baja fuerza iónica (sarcoplasmáticas) del músculo *Biceps femoris* de jamones curados correspondientes a los cruces genéticos A, B y C analizados por duplicado. PHb/PHbK: fosforilasa b/fosforilasa b kinasa; PFK: fosfofructo kinasa; PGM: fosfogluco mutasa; PK: piruvato kinasa; PGI: fosfogluco isomerasa; GAPDH: gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa; LDH: lactato deshidrogenasa; TPI: triosafosfato isomerasa y MK: miokinasa.



**Figura 4.6** Densitograma de las proteínas extraídas en tampón de baja fuerza iónica (sarcoplasmáticas) del músculo *Biceps femoris* de un jamón curado. Las bandas densitométricas se identifican: 1: fosforilasa b/fosforilasa b kinasa; 2: fosfofruto kinasa; 3:fosfogluco mutasa; 4: piruvato kinasa; 5: fosfogluco isomerasa; 6: gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa; 7: lactato deshidrogenasa; 8: 31 kDa; 9: triosafostato isomerasa; 10: 23 kDa; 11: 22 kDa; 12: miokinasa; 13: 18 kDa; 14: 15 kDa; 15: 12 kDa; 16: 11 kDa; 17: 10 kDa; 18: 9 kDa.

En las tres genéticas estudiadas, la proteína gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH) apareció como proteína mayoritaria, seguida de fosfogluco isomerasa (PGI), tanto en el músculo *Semimembranosus* como en el *Biceps femoris*.

**Tabla 4.7** Valores medios y desviaciones estándar de la densidad relativa (%) de las bandas electroforéticas correspondientes a las proteínas extraídas en tampón de baja fuerza iónica (sarcoplasmáticas) de los jamones curados de las genéticas A, B y C para los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris*.

Banda electroforética	<u><i>Semimembranosus</i></u>			<u><i>Biceps femoris</i></u>		
	A (n=6)	B (n=6)	C (n=6)	A (n=6)	B (n=6)	C (n=6)
149 kDa	-	-	-	-	-	-
Fosforilasa b/fosforilasa b kinasa	-	-	-	-	-	-
Fosfofructo kinasa	-	-	-	-	-	-
AMP desaminasa	-	-	-	-	-	-
Fosfogluco mutasa	-	-	-	2,94 ± 0,66	3,47 ± 1,06	3,37 ± 1,90
Piruvato kinasa	6,40 ± 1,68	8,01 ± 2,63	6,69 ± 2,67	4,90 ± 1,70	6,53 ± 2,13	6,66 ± 1,29
Fosfogluco isomerasa	9,34 ± 6,01	10,56 ± 5,97	7,17 ± 4,69	11,69 ± 4,44	11,73 ± 2,23	11,81 ± 2,58
Enolasa	-	-	-	-	-	-
Creatina kinasa/fosfoglicerato kinasa	-	-	-	-	-	-
Aldolasa	-	-	-	-	-	-
Gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa	19,18 <sup>a</sup> ± 3,49	18,28 <sup>a</sup> ± 3,70	23,09 <sup>b</sup> ± 3,02	18,82 ± 2,38	19,70 ± 2,75	18,70 ± 3,35
Lactato deshidrogenasa	-	-	-	3,91 ± 2,42	5,08 ± 1,42	3,27 ± 2,67
31 kDa	7,44 <sup>ab</sup> ± 0,89	6,24 <sup>a</sup> ± 1,76	8,46 <sup>b</sup> ± 2,11	7,42 ± 1,64	7,07 ± 3,57	7,38 ± 3,72

Superíndices (a,b) distintos en la misma fila indican diferencias significativas para P<0,05

Se señalan en color rojo las bandas electroforéticas encontradas en las muestras de los pernils pero no en todas las de jamón curado

**Tabla 4.7** Valores medios y desviaciones estándar de la densidad relativa (%) de las bandas electroforéticas correspondientes a las proteínas extraídas en tampón de baja fuerza iónica (sarcoplasmáticas) de los jamones curados de las genéticas A, B y C para los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris*. (Continuación).

Banda electroforética	<u><i>Semimembranosus</i></u>			<u><i>Biceps femoris</i></u>		
	A (n=6)	B (n=6)	C (n=6)	A (n=6)	B (n=6)	C (n=6)
Fosfoglicerato mutasa	-	-	-	-	-	-
25 kDa	-	-	-	-	-	-
Triosafosfato isomerasa	7,32 ± 1,89	6,40 ± 1,46	7,62 ± 2,39	7,05 ± 2,90	8,41 ± 1,30	7,55 ± 3,27
23 kDa	-	-	-	-	-	-
22 kDa	-	-	-	4,78 ± 2,86	5,10 ± 2,48	5,44 ± 0,90
Miokinasa	7,17 ± 2,51	9,52 ± 3,30	8,48 ± 2,85	6,99 ± 2,91	6,95 ± 1,90	5,90 ± 1,79
18 kDa	2,51 ± 0,52	2,42 ± 0,67	2,67 ± 0,91	2,68 ± 0,89	2,92 ± 1,06	2,72 ± 0,66
Mioglobina	-	-	-	-	-	-
15 kDa	4,05 ± 1,41	3,87 ± 0,80	4,64 ± 1,87	4,81 <sup>a</sup> ± 1,25	3,79 <sup>b</sup> ± 0,64	3,56 <sup>b</sup> ± 0,65
12 kDa	-	-	-	3,83 ± 1,65	3,18 ± 0,24	3,48 ± 1,09
11 kDa	3,26 ± 0,63	3,22 ± 1,96	4,04 ± 1,13	3,66 ± 1,68	3,29 ± 0,70	2,59 ± 0,77
10 kDa	3,40 ± 0,84	3,93 ± 0,91	4,38 ± 1,30	3,95 ± 0,90	3,77 ± 0,88	3,53 ± 0,84
9 kDa	4,08 <sup>a</sup> ± 3,07	7,67 <sup>b</sup> ± 2,97	4,96 <sup>ab</sup> ± 3,36	3,39 ± 1,72	4,83 ± 2,40	4,35 ± 1,37

Superíndices (a,b) distintos en la misma fila indican diferencias significativas para P<0,05

Se señalan en color rojo las bandas electroforéticas encontradas en las muestras de los pernils pero no en todas las de jamón curado



Las bandas correspondientes a las masas moleculares de 36 (Gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa), 31 y 9 kDa mostraron diferencias significativas entre los tres cruces genéticos en el músculo *Semimembranosus*, la gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa permitió distinguir a la genética C de las otras dos. En el músculo *Biceps femoris* la única banda que presentó diferencias significativas entre las genéticas fue la de 15 kDa, que fue superior para la genética A.

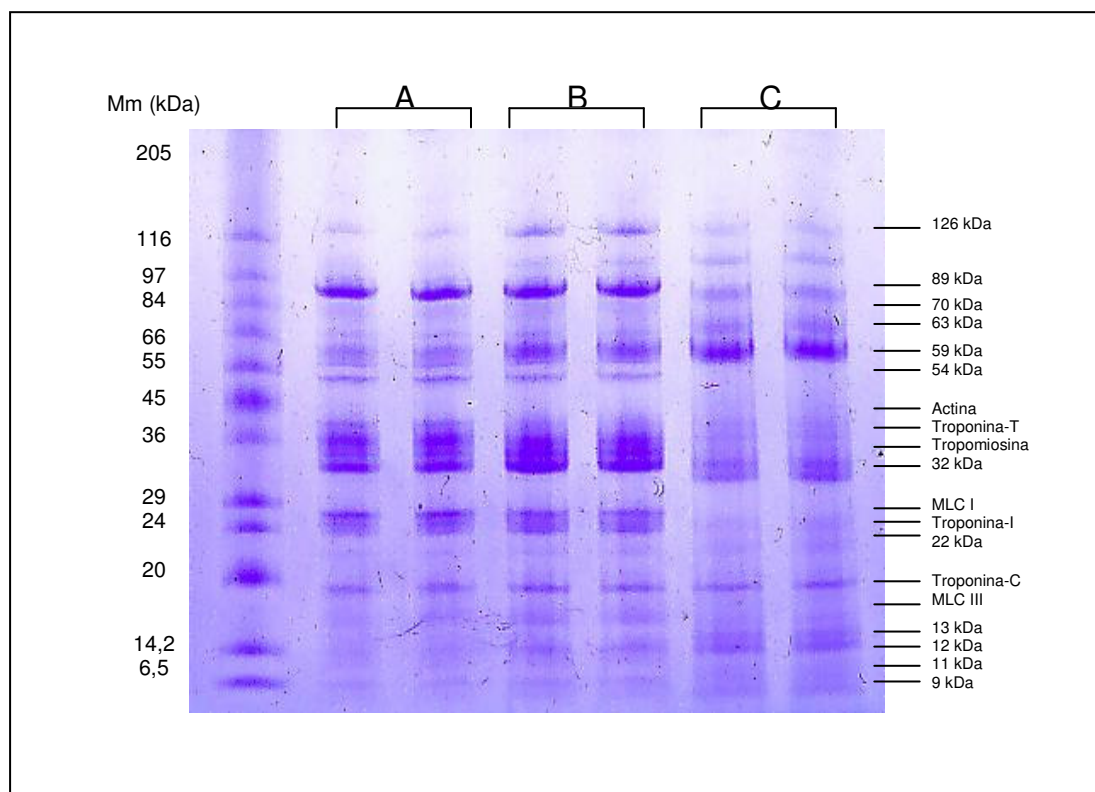
#### **b) Proteínas extraídas en tampón de elevada fuerza iónica (miofibrilares)**

En la Figura 4.7 aparece el electroforegrama de las proteínas extraídas en tampón fosfato 0,1 M y KI 1,1 M (miofibrilares) correspondiente a las muestras del músculo *Biceps femoris* de tres jamones curados procedentes de los tres cruces genéticos estudiados. Las muestras se analizaron por duplicado.

En la Figura 4.8 se presenta el densitograma correspondiente a una muestra extraída con tampón fosfato 0,1 M y KI 1,1 M del músculo *Biceps femoris* de un jamón curado.

Las bandas encontradas en las muestras de los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris* coincidieron, excepto la correspondiente a la proteína de 91 kDa, que solamente apareció en dos muestras del músculo *Semimembranosus* y a la de 17 kDa, que se encontró en dos muestras del músculo *Biceps femoris* y, por tanto, no se incluyeron en el tratamiento estadístico.

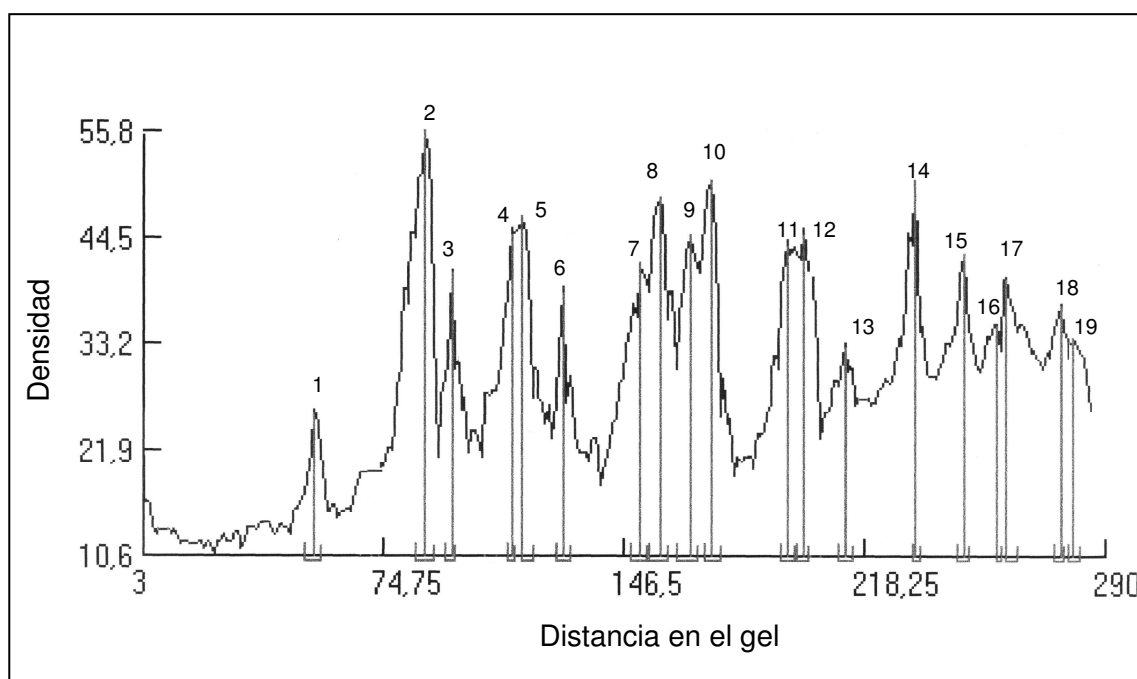
En el análisis estadístico de los resultados obtenidos para el músculo *Semimembranosus* no se incluyeron las proteínas de masa molecular: 102 ( $\alpha$ -actinina), 91, 78 y 17 kDa, ya que solamente aparecieron en algunas de las muestras analizadas. Tampoco se incluyeron las proteínas de 102 ( $\alpha$ -actinina), 78, 17 y 8 kDa en el *Biceps femoris* por la misma razón.



**Figura 4.7** Electroforegrama de las proteínas extraídas en tampón fosfato 0,1 M y KI 1,1M (miofibrilares) procedentes del músculo *Biceps femoris* de jamones curados pertenecientes a los cruces genéticos A, B y C analizados por duplicado. MLC I: miosina de cadena ligera I; MLC III: miosina de cadena ligera III.

En la Tabla 4.8 se recogen los valores medios y las desviaciones estándar de la densidad relativa de cada banda electroforética para los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris* de los jamones curados pertenecientes a los tres cruces genéticos estudiados.

La proteína que presentó mayor densidad relativa en el músculo *Semimembranosus* fue la troponina-T (37 kDa), seguida del polipéptido correspondiente a una masa molecular de 63 kDa, mientras que en el músculo *Biceps femoris* las proteínas que aparecieron en mayor cantidad fueron las correspondientes a las masas moleculares de 32 y 89 kDa.



**Figura 4.8** Densitograma de las proteínas extraídas en tampón fosfato 0,1 M y KI 1,1M (miofibrilares) procedentes del músculo *Biceps femoris* de un jamón curado. Las bandas densitométricas se identifican: 1: 126 kDa; 2: 89 kDa; 3: 70 kDa; 4: 63 kDa; 5: 59 kDa; 6: 54 kDa; 7: actina; 8: troponina-T; 9: tropomiosina; 10: 32 kDa; 11: miosina de cadena ligera I; 12: troponina-I; 13: 22 kDa; 14: troponina-C; 15: miosina de cadena ligera III; 16: 13 kDa; 17: 12 kDa; 18: 11 kDa; 19: 9 kDa.

Se observaron diferencias significativas en el músculo *Semimembranosus* para bandas de baja masa molecular: 35 (tropomiosina), 22, 9 y 8 kDa. La banda de 8 kDa diferenció a la genética B de las otras dos y las bandas de 9 y 22 kDa distinguieron a la genética B de la genética A y de la genética C, respectivamente, observándose en todos los casos un valor más elevado en la genética B. La tropomiosina (35 kDa) permitió diferenciar a la genética A de la genética C.

**Tabla 4.8** Valores medios y desviaciones estándar de la densidad relativa (%) de las bandas electroforéticas correspondientes a las proteínas extraídas en tampón fosfato 0,1 M y KI 1,1 M (miofibrilares) de los jamones curados de las genéticas A, B y C para los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris*.

Banda electroforética	<u><i>Semimembranosus</i></u>			<u><i>Biceps femoris</i></u>		
	A (n=6)	B (n=6)	C (n=6)	A (n=6)	B (n=6)	C (n=6)
Miosina de cadena pesada (200 kDa)	-	-	-	-	-	-
126 kDa	2,39 ± 0,91	1,84 ± 0,91	2,26 ± 1,42	2,76 ± 1,11	2,27 ± 0,99	2,58 ± 0,44
$\alpha$ -actinina (102 kDa)	-	-	-	-	-	-
89 kDa	8,13 ± 3,36	5,55 ± 2,75	7,04 ± 2,55	6,33 <sup>a</sup> ± 2,46	7,39 <sup>ab</sup> ± 1,62	9,02 <sup>b</sup> ± 2,38
70 kDa	4,74 ± 1,66	5,38 ± 2,88	5,52 ± 3,17	4,12 ± 0,93	3,21 ± 2,47	4,43 ± 2,43
63 kDa	8,11 ± 0,55	7,17 ± 3,22	7,81 ± 1,46	5,63 ± 1,68	6,55 ± 1,90	5,89 ± 4,77
59 kDa	4,52 ± 1,76	4,63 ± 4,05	4,19 ± 2,67	4,55 ± 0,80	3,42 ± 2,28	3,74 ± 2,07
56 kDa	-	-	-	-	-	-
54 kDa	4,08 ± 2,13	4,38 ± 0,93	4,36 ± 0,93	3,60 ± 2,02	3,31 ± 1,98	3,27 ± 1,78
Actina (41 kDa)	6,74 ± 2,31	5,73 ± 1,58	6,12 ± 1,46	5,43 ± 1,74	4,32 ± 2,27	5,54 ± 0,86
Troponina-T (37 kDa)	8,90 ± 2,29	8,00 ± 3,10	8,35 ± 1,62	6,92 ± 4,43	5,41 ± 3,69	5,60 ± 3,00
Tropomiosina (35 kDa)	4,62 <sup>a</sup> ± 2,44	6,08 <sup>ab</sup> ± 1,15	7,31 <sup>b</sup> ± 1,65	5,62 ± 1,89	7,29 ± 2,56	6,49 ± 1,36
32 kDa	7,71 ± 1,39	6,63 ± 2,15	7,21 ± 0,76	7,78 ± 1,27	7,69 ± 2,57	7,39 ± 1,04

Superíndices (a,b) distintos en la misma fila indican diferencias significativas para  $P < 0,05$

Se señalan en color rojo las bandas electroforéticas encontradas en las muestras de los pernils pero no en todas las de jamón curado

**Tabla 4.8** Valores medios y desviaciones estándar de la densidad relativa (%) de las bandas electroforéticas correspondientes a las proteínas extraídas en tampón fosfato 0,1 M y KI 1,1 M (miofibrilares) de los jamones curados de las genéticas A, B y C para los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris*. (Continuación).

Banda electroforética	<u><i>Semimembranosus</i></u>			<u><i>Biceps femoris</i></u>		
	A (n=6)	B (n=6)	C (n=6)	A (n=6)	B (n=6)	C (n=6)
Miosina de cadena ligera I (25 kDa)	3,44 ± 1,97	4,06 ± 1,37	4,64 ± 0,93	4,65 <sup>ab</sup> ± 1,35	5,94 <sup>a</sup> ± 1,49	3,69 <sup>b</sup> ± 2,22
Troponina-I (24 kDa)	-	-	-	4,50 ± 0,78	5,54 ± 1,34	4,21 ± 2,38
22 kDa	4,49 <sup>ab</sup> ± 1,42	5,72 <sup>a</sup> ± 1,27	4,15 <sup>b</sup> ± 1,08	5,25 ± 1,57	4,71 ± 1,03	4,78 ± 1,04
Troponina-C (20 kDa)	2,95 ± 1,45	3,48 ± 1,18	2,61 ± 1,30	3,41 ± 1,39	3,22 ± 0,70	3,37 ± 2,17
Miosina de cadena ligera II (18 kDa)	-	-	-	-	-	-
17 kDa	-	-	-	-	-	-
Miosina de cadena ligera III (15 kDa)	3,87 ± 2,03	4,86 ± 1,70	4,36 ± 2,25	5,64 ± 0,80	5,36 ± 1,24	5,02 ± 1,14
13 kDa	2,90 ± 1,56	3,03 ± 1,72	2,30 ± 0,72	4,29 ± 2,14	4,50 ± 1,96	3,15 ± 1,63
12 kDa	4,16 ± 0,61	4,02 ± 0,43	3,68 ± 1,01	4,18 ± 2,22	5,33 ± 1,26	4,83 ± 1,51
11 kDa	4,70 ± 0,59	4,58 ± 1,61	3,92 ± 1,21	4,64 ± 1,00	4,86 ± 2,54	3,84 ± 2,31
9 kDa	3,10 <sup>a</sup> ± 0,81	4,17 <sup>b</sup> ± 1,25	3,51 <sup>ab</sup> ± 0,42	5,31 <sup>a</sup> ± 2,28	6,54 <sup>b</sup> ± 2,77	5,61 <sup>a</sup> ± 3,84
8 kDa	3,78 <sup>a</sup> ± 1,05	5,23 <sup>b</sup> ± 1,16	3,61 <sup>a</sup> ± 1,06	-	-	-

Superíndices (a,b) distintos en la misma fila indican diferencias significativas para P<0,05

Se señalan en color rojo las bandas electroforéticas encontradas en las muestras de los pernils pero no en todas las de jamón curado

Se encontraron diferencias significativas en el músculo *Biceps femoris* para las proteínas de 89, 25 y 9 kDa. El polipéptido de 89 kDa mostró diferencias significativas entre las genéticas A y C, la proteína de 25 kDa (miosina de cadena ligera I) y la de 9 kDa presentaron un valor medio superior en la genética B.

### 4.3 COMPARACIÓN ENTRE EL PERNIL FRESCO Y EL JAMÓN CURADO RESPECTO A LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA Y A LA PROTEOLISIS

#### 4.3.1 Actividad enzimática de las catepsinas B+L

En las Tablas 4.9, 4.10 y 4.11 se resumen los valores medios de la actividad enzimática de las catepsinas B+L en los perniles frescos a los 5 días *post mortem* y en los jamones curados durante 11 meses para los tres cruces genéticos. También se incluye el resultado de aplicar el Test de la t de Student y la variación ( $\Delta$ ) entre los valores obtenidos para los jamones frescos y curados en los análisis de los músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris*.

**Tabla 4.9** Comparación de la actividad enzimática de las catepsinas B+L para los jamones frescos y curados de la genética A.

	<i>Semimembranosus</i>			<i>Biceps femoris</i>		
	FRESCO	CURADO	$\Delta$	FRESCO	CURADO	$\Delta$
<b>ACTIVIDAD CATEPSINAS B+L (mU/g ES)</b>	159,11 <sup>a</sup>	1,67 <sup>b</sup>	-157,44	125,92 <sup>a</sup>	1,56 <sup>b</sup>	-124,36

Superíndices (a,b) distintos en la misma fila y para el mismo músculo indican diferencias significativas para  $P < 0,05$

**Tabla 4.10** Comparación de la actividad enzimática de las catepsinas B+L para los jamones frescos y curados de la genética B.

	<i>Semimembranosus</i>			<i>Biceps femoris</i>		
	FRESCO	CURADO	$\Delta$	FRESCO	CURADO	$\Delta$
<b>ACTIVIDAD CATEPSINAS B+L (mU/g ES)</b>	139,13 <sup>a</sup>	1,48 <sup>b</sup>	-137,65	121,71 <sup>a</sup>	1,23 <sup>b</sup>	-120,48

Superíndices (a,b) distintos en la misma fila y para el mismo músculo indican diferencias significativas para  $P < 0,05$

**Tabla 4.11** Comparación de la actividad enzimática de las catepsinas B+L para los jamones frescos y curados de la genética C.

	<i>Semimembranosus</i>			<i>Biceps femoris</i>		
	FRESCO	CURADO	$\Delta$	FRESCO	CURADO	$\Delta$
<b>ACTIVIDAD CATEPSINAS B+L (mU/g ES)</b>	134,03 <sup>a</sup>	1,44 <sup>b</sup>	-132,59	121,39 <sup>a</sup>	0,85 <sup>b</sup>	-120,54

Superíndices (a,b) distintos en la misma fila y para el mismo músculo indican diferencias significativas para  $P < 0,05$

La actividad enzimática de las catepsinas B+L experimentó un pronunciado descenso al terminar los 11 meses de curado, representando un 1% de la inicial. Toldrá y col. (1993) encontraron en el músculo *Semimembranosus* de jamones con 8 meses de curado un valor medio del 18% de la actividad inicial. Esta diferencia entre ambos trabajos puede ser debida al tiempo de procesado empleado.

### 4.3.2 SDS-PAGE de las proteínas

#### a) Fracción sarcoplasmática

Al comparar las Tablas 4.2 y 4.7 se observa que las densidades relativas correspondientes a las proteínas sarcoplasmáticas de los perniles frescos analizados a los 5 días *post mortem* y de los jamones curados durante 11 meses, son diferentes. Los cambios encontrados al finalizar el proceso fueron similares en los dos músculos. De forma general, se observaron cuatro fenómenos: (1) la desaparición de bandas electroforéticas, principalmente de pesos moleculares elevados, (2) la variación cuantitativa de algunos polipéptidos, (3) la aparición de nuevos fragmentos proteicos en los jamones curados, fundamentalmente en el rango de 9-22 kDa y (4) la estabilidad de la concentración de algunos polipéptidos. A continuación se comentan cada uno de estos grupos.

(1) Polipéptidos que desaparecieron durante el proceso de curado: los perniles frescos mostraron bandas correspondientes a los pesos moleculares 155, 144, 71, 25 y 23 kDa y la enolasa (EN), la fosfoglicerato mutasa (PGAM) y la mioglobina (Mb), que no aparecieron en ninguna de las muestras de jamón curado.

(2) Polipéptidos que modificaron su concentración durante el curado: se observó una disminución de las siguientes proteínas (llegando incluso a desaparecer en algunas de las muestras analizadas): 149 kDa, fosforilasa b/fosforilasa b kinasa (PHb/PHbK), fosfofructo kinasa (PFK), AMP desaminasa (AMPDA), fosfogluco mutasa (PGM), creatina kinasa/fosfoglicerato kinasa (CK/PGAK), aldolasa (ALD) y lactato deshidrogenasa (LDH).

La desaparición de dichas proteínas puede ser debida a la proteolisis y/o insolubilización debida a las condiciones que se desarrollan durante el proceso de curado: la elevación de la temperatura, la disminución del pH, la reducción de la  $a_w$ , el aumento de la concentración de sal (Klement y col., 1973; Wardlaw y col., 1973; Astiasarán y col., 1990).



Por otro lado, se encontró el aumento de la intensidad relativa de las proteínas: fosfogluco isomerasa (PGI), gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH), triosafosfato isomerasa (TPI), miokinasa (MK) y la correspondiente a una masa molecular de 12 kDa (solamente en el músculo *Biceps femoris*).

(3) Polipéptidos que aparecieron durante el proceso de curado: las nuevas bandas, que aparecieron en los jamones curados y que no se encontraron en la carne fresca, provinieron posiblemente de la proteólisis de las proteínas miofibrilares (Toldrá y col., 1993; Córdoba y col., 1994). Se correspondieron con los pesos moleculares: 124, 112, 104, 96, 94, 56, 31, 30, 22, 18, 15 y 9 kDa. Los fragmentos de 31, 18, 15 y 9 se encontraron en todas las muestras analizadas.

Los fragmentos de pesos moleculares 11 y 10, que aparecieron solamente en algunas muestras de los perniles frescos, se identificaron en todas las muestras de los jamones curados.

(4) Polipéptidos que no experimentaron variaciones: la piruvato kinasa.

En la Tabla 4.12 aparecen los cambios experimentados por las proteínas sarcoplasmáticas durante el curado en diferentes tipos de jamones.

## **b) Fracción miofibrilar**

Al comparar las Tablas 4.4 y 4.8, correspondientes a las densidades relativas de las proteínas miofibrilares de los perniles frescos analizados a los 5 días *post mortem* y de los jamones curados durante 11 meses, se pudieron establecer cuatro grupos de compuestos polipeptídicos: (1) compuestos que desaparecieron en las muestras de jamón curado, correspondientes a proteínas de elevada masa molecular, principalmente, (2) compuestos nuevos, que aparecieron fundamentalmente en los rangos de 54-89 kDa y 8-12 kDa, (3) polipéptidos que modificaron su concentración y (4) aquéllos que no sufrieron variación apreciable.

**Tabla 4.12** Cambios experimentados por las proteínas sarcoplasmáticas de diferentes tipos de jamones durante el curado.

Muestras	Fenómeno	Referencia
Jamón ibérico (17 meses y medio)	- Desaparición de la fosforilasa b* en SM después del salado y pérdida de intensidad en BF, desapareciendo a los 6 meses de estancia en bodega (12 meses de curado) - Desaparición de la enolasa, la creatina kinasa y la mioglobina**	Córdoba (1990)
Jamón ibérico (17 meses y medio)	- Desaparición de la fosforilasa b* - Aparición de bandas electroforéticas de 120, 85, 70 y 67 kDa	Córdoba y col. (1994)
Jamón ibérico (15 meses)	- Aparición de fragmentos proteicos	Toldrá y col. (1993)
Jamón de Bayona (8 meses)	- Desaparición de la fosforilasa b* y la mioglobina** - Disminución de la piruvato kinasa, la enolasa, la creatina kinasa, la fosfoglicerato mutasa y la triosafosfato isomerasa	Monin y col. (1997)

SM: *Semimembranosus*; BF: *Biceps femoris*.

\* La fosforilasa b posee una masa molecular similar a  $\alpha$ -actinina que, aunque es una proteína miofibrilar, puede extraerse en tampones de baja fuerza iónica si es previamente liberada de la línea Z por las proteasas neutras calcio-dependientes no lisosomales, sin llegar a ser hidrolizada (Nagainis y Wolfe, 1982). Este hecho puede ocurrir durante la transformación del músculo en carne, mientras que posteriormente, durante las etapas del curado, se produce una pérdida de la solubilidad de la citada proteína lo cual explicaría la baja intensidad de esta banda.

\*\* La banda electroforética de 16 kDa, que corresponde a la mioglobina, desapareció completamente lo cual es debido a que se une al óxido nítrico para formar nitrosomioglobina, dejando por tanto, de ser soluble en tampones acuosos (Córdoba y col., 1994); Sakata y Nagata (1986) también señalaron la dificultad de extraer a los nitrosilhemopigmentos con agua.

(1) Polipéptidos que desaparecieron del pernil durante el proceso de curado: se correspondieron con las masas moleculares: 200 kDa (miosina de cadena pesada), 140 kDa (proteína-C), 102 kDa ( $\alpha$ -actinina) (se identificó en algunas muestras de jamón curado, pero con una intensidad relativa muy baja), 56 kDa, 18 kDa (miosina de cadena ligera II) y 17 kDa (apareció con una concentración muy pequeña en algunas muestras del músculo *Biceps femoris* de jamón curado).

La ruptura de proteínas de elevada masa molecular, como la miosina, se puede deber a la proteólisis catalizada por las catepsinas B, D, H y L, que permanecen activas incluso a los 8 y 15 meses de curado (Toldrá y Etherington, 1988; Toldrá y col., 1993). La desaparición de proteínas de elevada masa molecular también puede ser debida a la pérdida de solubilidad, debido a la desnaturalización que provoca el proceso de secado (Astiasaran y col., 1990). También pueden desaparecer por reacciones de oxidación catalizadas por metales pesados, que se pueden encontrar como contaminantes de la sal de curado y forman enlaces entre moléculas, dificultando su extracción (Knight y Pearson, 1988).

(2) Polipéptidos que aparecieron durante el proceso de curado: en el jamón curado aparecieron bandas que no se encontraron en el pernil como la de 126 kDa y las incluidas en los rangos 54-89 kDa (54, 63 y 89) y 8-12 kDa (8, 9, 11 y 12). La banda correspondiente a la masa molecular de 59 kDa apareció en todas las muestras del músculo *Semimembranosus* del jamón y en el 50% del pernil.

Yates y col. (1983) sugirieron que los fragmentos de las moléculas de miosina deben encontrarse en la región de 50-100 kDa, donde aparecieron numerosos fragmentos de proteínas en jamón curado.

El fragmento peptídico de 8 kDa se identificó en todas las muestras del músculo *Semimembranosus* de los jamones curados y sólo en algunas del

músculo *Biceps femoris*, lo que podría indicar una mayor proteolisis en el primer músculo.

(3) Polipéptidos que modificaron su concentración a lo largo del proceso de curado: se observó una ligera disminución en el porcentaje de actina y de troponina-T (solamente en el músculo *Biceps femoris*) desde los perniles a jamón. También disminuyeron su intensidad relativa las proteínas: tropomiosina miosina de cadena ligera I (principalmente en el músculo *Semimembranosus*), troponina-I y la de 22 kDa.

La banda correspondiente a una masa molecular de 70 kDa apareció en 8 de las 36 muestras analizadas de los perniles frescos, con una proporción inferior al 2,5%; en cambio, se identificó en todas las muestras de jamón terminado con intensidades relativas medias desde 3,2 hasta 5,5%. También aumentaron ligeramente la concentración de la miosina de cadena ligera III y la del polipéptido de 13 kDa en el músculo *Biceps femoris*.

La banda de 32 kDa aumentó principalmente en el músculo *Biceps femoris*.

(4) Polipéptidos que no experimentaron variaciones: la troponina-C permaneció prácticamente constante.

En la Tabla 4.13 aparecen los resultados obtenidos por otros autores en cuanto a los cambios experimentados por las proteínas miofibrilares en diferentes tipos de jamones con distinto tiempo de curado.

**Tabla 4.13** Cambios experimentados por las proteínas mifibrilares de diferentes tipos de jamones durante el curado.

<b>Muestras</b>	<b>Fenómeno</b>	<b>Referencia</b>
Jamón ibérico de Jabugo (18 meses)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Aumento de los fragmentos de 70 y 30 kDa</li> <li>- Aparición de los fragmentos de 125 kDa y de 73 kDa</li> <li>- Permanecieron constantes la actina y la troponina-T</li> </ul>	De Prado (1988)
Jamón serrano (8 meses)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Desaparición de la miosina de cadena pesada</li> <li>- Aparición del fragmento de 150 kDa*</li> </ul>	Toldrá y col. (1992b)
Jamón ibérico (15 meses)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Desaparición de la miosina de cadena pesada</li> <li>- Permanecieron constantes la actina y la troponina-T</li> </ul>	Toldrá y col. (1993)
Jamón ibérico (17 meses y medio)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Desaparición de la proteína-C al terminar la 2ª etapa de postsalado (4 meses en los que se alcanzaron los 18º C), de la <math>\alpha</math>-actinina al final del secado (15 meses de curado en los que se alcanzaron los 30º C), y de la miosina de cadena pesada al final del proceso</li> <li>- Aparición de los fragmentos de 150 kDa* y de 70 kDa (mitad del reposo: 11 meses de curado)</li> <li>- Disminución de la actina y la troponina-T</li> </ul>	Córdoba y col. (1994)
Jamón de Bayona (8 meses)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Disminución de la miosina de cadena pesada y del resto de proteínas miofibrilares, excepto de la actina que permaneció constante</li> <li>- Aparición del fragmento de 150 kDa*</li> </ul>	Monin y col. (1997)

\* Estos autores encontraron el aumento del fragmento de 150 kDa durante el curado, originado por la degradación de la miosina de cadena pesada, descrito anteriormente por: Schwartz y Bird (1977), Penny y Ferguson-Pryce (1979), Robbins y col. (1979).

#### 4.4 CONCLUSIONES

Genética A: 75% Duroc y 25% Landrace  
Genética B: 50% Duroc, 25% Landrace y 25% Large White  
Genética C: 75% Duroc y 25% Landrace

**1.-** La actividad enzimática inicial de las catepsinas B+L permite predecir que durante el curado se desarrollará la proteolisis en el grado conveniente y que será más intensa en el músculo *Semimembranosus* que en el *Biceps femoris*. La actividad enzimática residual de las catepsinas B+L, que queda en los jamones a los 11 meses de curado, es el 1% de la inicial, por lo que serán bastante estables.

**2.-** Juzgando la proteolisis desde varios puntos de vista resulta que: el índice de proteolisis (nitrógeno no proteico/nitrógeno total x 100) es superior en el músculo *Biceps femoris* que en el *Semimembranosus* (sin encontrarse diferencias significativas entre los tres cruces genéticos) y que cualitativamente las proteínas que aparecen en los dos músculos son las mismas, tanto en la fracción sarcoplasmática como en la miofibrilar de los tres cruces genéticos.

**3.-** Las proteínas sarcoplasmáticas mayoritarias en el pernil fresco son el par formado por la creatina kinasa y la fosfoglicerato kinasa, mientras que en el jamón curado se encuentra en mayor concentración la gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa.

**4.-** Los perniles se caracterizan por mostrar diferencias cuantitativas entre los tres cruces genéticos, tanto en el músculo *Semimembranosus* como en el *Biceps femoris*, en el par de proteínas formado por la fosforilasa b y la fosforilasa b kinasa (sarcoplasmáticas) y en la miosina de cadena pesada, la troponina-I y la miosina de cadena ligera II (miofibrilares); sin embargo, en el jamón curado solamente se encuentra el fragmento proteico de 9 kDa que revela diferencias significativas entre los tres cruces genéticos en los dos músculos.

**5.-** Los jamones curados de la genética B se caracterizan por presentar un contenido mayor en fragmentos de bajo peso molecular: 8, 9 y 22 kDa en el

músculo *Semimembranosus* y 25 kDa (miosina de cadena ligera I) y 9 kDa en el músculo *Biceps femoris*, respecto a los otros dos cruces genéticos estudiados. Este hecho pone de manifiesto la mayor proteólisis desarrollada durante los 11 meses de curado en los jamones de la genética B, lo que contribuirá positivamente en la calidad del aroma y del sabor del producto terminado.

**6.-** Los pernils de la genética A presentan la mayor densidad relativa de los fragmentos con masas moleculares pequeñas correspondientes a proteínas miofibrilares y menor en los de pesos moleculares superiores, lo cual indica una mayor intensidad de la proteólisis en esta genética a los 5 días *post mortem*.

**7.-** Los pernils de la genética C se caracterizan por su mayor contenido en mioglobina.

## **CAPÍTULO 5: ANÁLISIS SENSORIAL**

### **5.0 INTRODUCCIÓN**

El análisis sensorial es el examen de las propiedades organolépticas de un producto realizado con los órganos de los sentidos. En cuanto se refiere a los sujetos que la llevan a cabo, es una ciencia multidisciplinar, relacionada con la fisiología, la psicología, la sociología y la estadística.

El proceso de la percepción sensorial del jamón curado por parte del consumidor es el siguiente: primero recibe los estímulos externos tanto por la vista (aspecto) como por el olfato (olor), al meterlo en la boca y mientras se mastica y se saliva se percibe el sabor y aroma retronasal. También se perciben sensaciones mediante el sentido del tacto como el esfuerzo masticatorio y la temperatura del jamón.

#### **5.0.1 Propiedades sensoriales del jamón curado**

Las características sensoriales del jamón curado dependen principalmente de la materia prima utilizada y del proceso tecnológico aplicado. En la industria se pretende fabricar un producto valorado por sus características sensoriales típicas de aspecto, textura y olfato-gustativas.

#### **Aspecto**

El aspecto es la primera información que recibe el consumidor sobre un alimento y en la mayoría de los casos la única que posee para elegir la compra del mismo.

La propiedad sensorial más importante asociada con el sentido de la vista, es el color, aunque existen otros atributos detectados por medio de este sentido como la forma, el tamaño, la superficie de corte y el brillo.



### Aspecto externo

Los jamones serranos deben presentar una conformación uniforme y homogénea (Especialidad Tradicional Garantizada, 1999). Al terminar el curado, los jamones se suelen cubrir con manteca de cerdo o con grasa líquida para evitar la proliferación de ácaros en la superficie y mejorar la presentación, lo cual hace que el jamón aparezca de color marrón claro, disimulando las posibles coloraciones blanquecinas, verdosas y grisáceas debidas al crecimiento de mohos, principalmente *G. Penicillium* y *G. Aspergillus* (Núñez, 1995).

### Aspecto del magro al corte

Las características principales relacionadas con el aspecto que presenta el jamón al ser cortado son el color, el grado de veteado y el brillo.

Oliver y col. (1994) y Rovira y col. (1996), encontraron que los catadores calificaban mejor a los jamones de cerdo blanco con color rojo menos oscuro. Esto puede ser debido a la disminución de la oscuridad del magro por una mayor cantidad de grasa infiltrada. También es importante la homogeneidad y estabilidad del color rojo en la superficie de corte (Eadie y col., 1990; Buscailhon y col., 1995; Chizzolini y col., 1996).

La cantidad de grasa intramuscular o veteado está relacionada con el aspecto y con otros caracteres sensoriales como la dureza, jugosidad y las características olfato-gustativas (Ruiz, 1996; Guerrero y col., 1996; Virgili y col., 1998a). Varios autores consideran el grado de veteado como un criterio de calidad de la carne de cerdo (Wood y col., 1992), aunque una cantidad excesiva de grasa puede resultar negativa en la aceptación del producto por los consumidores (Kempster y col., 1986; Wood y col., 1986; Rovira y col., 1996).

El brillo es debido a la grasa fluida a temperatura ambiente, que se extiende en forma de delgada película en la superficie de corte. Es más intenso en jamón ibérico que en jamón serrano, ya que el primero posee mayor cantidad

de grasa intramuscular rica en ácidos grasos insaturados. El corte en lonchas de superficie lisa favorece la presentación del brillo.

## **Textura**

La textura, definida según la Norma UNE 87-001-94 (1997), es el conjunto de propiedades mecánicas, geométricas y de composición de un producto perceptibles por los sentidos del tacto, la vista y el oído.

Las propiedades mecánicas son aquéllas que se relacionan con la reacción del producto cuando se le aplica una fuerza. Hay cinco elementales: dureza, cohesión, viscosidad, elasticidad y adherencia. Las propiedades geométricas son las relacionadas con el tamaño, forma y distribución de las partículas del producto. Las propiedades de composición son las relacionadas con las sensaciones producidas por el contenido de agua y de grasa. Para la medida de estas características se suelen utilizar métodos basados en el análisis del perfil de textura (Brandt y col., 1963) que permiten valorar cada uno de los descriptores siguiendo el orden en el que aparecen: desde el primer mordisco, a través de la masticación y hasta la deglución.

En la boca, la textura de un alimento se percibe mediante los receptores táctiles situados en la lengua, las encías, la garganta y el paladar, además, se perciben sensaciones de temperatura, sabor y dolor.

El análisis sensorial de la textura de la carne y de los productos cárnicos comprende varias etapas en las que se ponen de manifiesto los diferentes descriptores (Tabla 5.1).

**Tabla 5.1** Etapas para la evaluación de los descriptores de la carne y de los productos cárnicos (Civille y Liska, 1975; Jeremiah, 1988; Jeremiah y col., 1990; Lyon y Lyon, 1990; Rousset y col., 1990; Oliver y col., 1994 y Ruiz, 1996).

ETAPA	SENSACIONES PRODUCIDAS
Visual	Superficie lisa, húmeda, grasienta, oleosa
Compresión parcial	Elasticidad
Primer mordisco	Compresión, liberación de humedad, dureza, firmeza, cohesividad, cantidad y tipo de grasa, uniformidad, sequedad, primera impresión de ternura, desmenuzabilidad
Masticación	Dureza, producción de saliva, liberación y absorción de saliva, cantidad y tipo de grasa, número de mordiscos necesarios hasta la deglución, fibrosidad, rango de rotura, tipo y cantidad de tejido conectivo, tamaño del bolo, uniformidad, astringencia
Deglución	Facilidad para la deglución, cantidad, tipo y uniformidad de partículas, fibras, carácter aceitoso, adherencia a los dientes.

La textura del jamón depende de diferentes características de la materia prima: el contenido de grasa intramuscular (Guerrero y col., 1996; Virgili y col., 1998a), la composición de la grasa (Flores y col., 1985b), el pH (Arnau y col., 1998; Guerrero y col., 1999), el grado de proteólisis (Parolari y col., 1994; Virgili y col., 1995) y la reticulación del colágeno. También depende del proceso de curado, del contenido de sal (Arnau y col., 1997a), de la temperatura (Arnau y col., 1997a; Parolari y col., 1994) y de la intensidad del secado. Por otra parte, la textura depende del espesor de la loncha, del método y la dirección del corte, de la temperatura y de la cantidad de grasa que queda encima del magro, la cual depende, a su vez, del tipo de corte (Arnau, 2000).

Los atributos deseables en un jamón curado son: una dureza intermedia, que sea desmenuzable y jugoso por la fusión de la grasa en la boca. Por el contrario, la adherencia, la pastosidad y la presencia abundante de tejido conectivo disminuyen la aceptación del producto (Guerrero y col., 1998).

Nute y col. (1987) señalaron que la dureza y la jugosidad son las máximas responsables de las variaciones en la calidad del jamón curado.

### Jugosidad

La jugosidad percibida en la boca es debida a dos sensaciones: la primera, se produce por la liberación de jugos procedentes de la carne al iniciarse la masticación, y la segunda, por el efecto estimulador de la grasa en la secreción de la saliva y el revestimiento de la cavidad bucal por la misma (Cross, 1994).

Algunos autores han relacionado la calidad del jamón curado con la jugosidad (García y col., 1996; Ruiz, 1996).

### Dureza

La dureza es la resistencia que ofrece la carne a ser masticada. En la carne y los productos cárnicos depende de: la estructura del músculo (tamaño de las fibras musculares y distribución del tejido conectivo), la composición del músculo (proteínas del tejido conectivo y cantidad de grasa intramuscular), y de los cambios bioquímicos *post mortem* (grado de contracción de las fibras, cambios proteolíticos) (Monin y Ouali, 1991).

Oliver y col. (1994) encontraron que los jamones que obtenían una mejor calificación por los consumidores fueron valorados como más duros por un panel de cata entrenado.

## **Sensaciones bucales**

Son las sensaciones olfato-gustativas, táctiles y químicas que permiten identificar un alimento al meterlo en la boca.

El gusto del jamón curado depende, fundamentalmente, de su composición y contenido en aminoácidos libres, péptidos y nucleótidos, mientras que el aroma

resulta del conjunto de compuestos volátiles. Los procesos bioquímicos y químicos por los que se forman estos compuestos volátiles y no volátiles están condicionados por factores *ante* y *post mortem*. Factores *ante mortem* son: el cruce genético empleado, la edad del animal, el tipo de alimentación, las condiciones medioambientales previas al sacrificio, etc., y los factores *post mortem*: las condiciones de refrigeración y transporte de los jamones, el proceso industrial de curado, etc.

### Gusto

El sentido del gusto reside fundamentalmente en la lengua, donde se encuentran los receptores específicos (papilas gustativas) para los sabores fundamentales: salado, dulce, amargo, ácido y umami. También existen receptores en el paladar y la garganta. Las papilas gustativas se encuentran deslocalizadas, siendo más abundantes en la punta y en los bordes de la lengua.

En la carne y los productos cárnicos se han identificado una serie de componentes relacionados con el sabor (Tabla 5.2). Los que tienen una mayor influencia son el cloruro sódico, los aminoácidos, los péptidos y los nucleótidos; después, los iones inorgánicos, las aminas y algunos componentes sulfurados; por último, los heterociclos sulfurados y nitrogenados.

### Sabor salado

El sabor salado es debido fundamentalmente al cloruro sódico. El sodio, al entrar dentro de la papila gustativa receptora, ocasiona una alteración en el potencial de membrana, lo cual origina el impulso nervioso, mientras que el ion cloruro posee acción estimulante (Formaker y Hill, 1988). Otras sales, como cloruros, bromuros, yoduros, nitratos y sulfatos de potasio o de litio, no poseen un sabor salado puro. Se ha comprobado que la utilización de este tipo de sales en productos cárnicos aportan un sabor salado menos intenso (Kohata y col., 1992).

**Tabla 5.2** Compuestos relacionados con el sabor presentes en la carne y los productos cárnicos (MacLeod, 1986).

SABOR	COMPUESTO
Dulce	Glucosa, fructosa, ribosa, glicina, alanina, serina, treonina, lisina, prolina, hidroxiprolina
Salado	Cloruro sódico, sales inorgánicas, glutamato sódico, aspartato sódico
Ácido	Ácido aspártico, ácido glutámico, histidina, asparragina, ácido succínico, ácido láctico, ácido carboxílico, pirrolidina, ácido fosfórico
Amargo	Creatina, creatinina, hipoxantina, anserina, carnosina, otros péptidos, histidina, arginina, metionina, valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, triptófano, tirosina
Umami	Glutamato monosódico, 5'-inosina monofosfato, 5'-guanina monofosfato, algunos péptidos

La intensidad del sabor salado del jamón no depende solamente de la cantidad de sal, también influye la cantidad de grasa, así como la formación de complejos entre el sodio y el cloruro con las proteínas de la carne. En jamones de curado lento se tolera un mayor contenido en sal que en los de curado rápido, puesto que en los primeros, la sal establece una unión más fuerte con las proteínas de la carne y al masticar no se moviliza tan fácilmente como ocurre en los de curado rápido, por tanto el sabor salado es menos intenso. Además, la mayor cantidad de grasa infiltrada en los jamones de curado lento enmascara el sabor salado.

El contenido de sal del jamón debe ser, desde el punto de vista microbiológico, no demasiado bajo, y desde el punto de vista sensorial y nutricional, no demasiado alto. Una intensidad del sabor salado excesiva o insuficiente es rechazada por los consumidores. Díaz (1993) encontró baja aceptación de jamones pesados que contenían un 9-10% de cloruro sódico referido a extracto húmedo, frente a jamones ligeros con un 7%, a pesar de ser peor puntuados en el resto de caracteres sensoriales. Virgili y col. (1997) realizaron un estudio con consumidores en el que valoraron seis tipos de jamones curados europeos, los resultados mostraron una preferencia por los

jamones con menor contenido en sal (escogieron los que contenían un 5% frente a un 7%).

### Sabor ácido

El sabor ácido no es característico del jamón serrano tradicional. Puede aparecer en jamones que se deshuesan al inicio del curado o en una etapa intermedia para acelerar su maduración, lo cual ocasiona una contaminación del interior del jamón por bacterias lácticas que acidifican el producto (Arnau, 2000).

Este sabor se ha relacionado con la presencia de péptidos de masa molecular inferior a 1000 Da (Aristoy y Todrá, 1995) y de aminoácidos como fenilalanina e isoleucina (Careri y col., 1993).

### Sabor amargo

El sabor amargo puede aparecer en jamones que han sufrido una proteólisis intensa, en la cual se han formado ciertos péptidos de pequeño tamaño ricos en aminoácidos como tirosina e hipoxantina (Aristoy y Toldrá, 1995). Arnau (2000) propuso que para disminuir el sabor amargo sería conveniente evitar los perniles con un elevado potencial proteolítico, la disminución innecesaria de la cantidad de sal añadida, el mantecado prematuro y moderar la temperatura de maduración.

Otros autores han relacionado el sabor amargo con la cantidad de nitrógeno no proteico. Virgili y col. (1998a) comprobaron, en jamón de Parma, que un índice de proteólisis de 28,7% se correspondía con sabor amargo leve y un 31,2% con sabor desde moderado a fuerte, encontrando diferencias significativas ( $P < 0,01$ ) entre los grupos para el músculo *Biceps femoris*.

El sabor amargo en jamón también puede deberse a la adición excesiva de sales de potasio (nitrato potásico y cloruro potásico) o de magnesio (cloruro magnésico), lo cual es poco frecuente que ocurra (Arnau, 1987a).

### Sabor umami

El sabor umami es debido principalmente al ácido glutámico y a su sal, glutamato monosódico, y puede ser potenciado por ciertos 5'-ribonucleótidos (Yamaguchi, 1991), fundamentalmente el 5'-inosín monofosfato y el 5'-guanidín monofosfato (Maga, 1994). Durante la proteólisis que sufre el jamón se liberan ciertos aminoácidos y péptidos de pequeño tamaño (1500-1700 Da) que confieren este sabor (Aristoy y Toldrá, 1995).

### Sabor dulce

El sabor dulce suele ser más intenso en jamones con mayor tiempo de curado, ya que han experimentado una mayor proteólisis en la que se han liberado aminoácidos responsables de este sabor (MacLeod, 1986; Kato y col., 1988). También aparece mayor sabor dulce en aquéllos que presentan una nota añeja (Sanchez-Molinero y Arnau, 1998). Se puede aumentar el sabor dulce mediante la adición de dextrosa u otros azúcares.

### Gusto metálico

Se ha definido el gusto metálico en las zonas más húmedas de jamones con ciclo de curado corto. Disminuye al aumentar el tiempo de curado (Arnau, 2000). Sánchez-Molinero y col. (2000) encontraron mayor intensidad del gusto metálico en jamones elaborados en atmósfera modificada, por lo que la aparición de este atributo puede estar relacionado con fenómenos oxidativos.

### **Olor-aroma**

El olfato se basa, en algunos casos, en la acción de moléculas con una estructura química determinada sobre receptores específicos de la pituitaria.

Las sustancias olorosas son compuestos volátiles que alcanzan la pituitaria y que, una vez se han disuelto en el moco de la misma, entran en



contacto con terminaciones nerviosas que envían la información al cerebro. Estos compuestos son conducidos hasta la mucosa mediante el aire, el cual puede provenir del exterior y entrar por las fosas nasales (vía nasal directa), o bien puede llegar desde la cavidad bucal y la parte posterior de la cavidad nasal (vía indirecta).

El sentido del olfato está en conexión con el sistema límbico, lo que determina la formación de asociaciones de contenido emocional superiores a las del sentido de la vista o del oído (Ruiz, 1996). Por tanto, el aspecto se puede considerar determinante en la decisión de compra por parte del consumidor la primera vez que adquiere un producto, pero el aroma es el responsable de que lo siga comprando.

El aroma del jamón curado depende de las sustancias presentes en la materia prima y de las que se generan durante el curado. También depende de la unión de estas sustancias volátiles con los componentes de la carne y de las interacciones que pueden presentar entre sí (Arnau, 2000).

### Materia prima

La carne contiene una gran cantidad de sustancias precursoras del aroma (Shahidi, 1989).

Existe una relación importante entre la alimentación del animal y los compuestos que contribuyen al aroma de la carne (Arnau, 1987a; García y col., 1991; Ruiz, 1996; Ventanas y col., 1998). Estos compuestos pueden tener un olor agradable o desagradable.

La utilización de machos no castrados está relacionada con la aparición de olores desagradables en la carne y en el jamón curado (Arnau y col., 1986), definidos como olor a animal, a verraco, sexual.

### Curado

Durante el curado se producen reacciones lipolíticas y proteolíticas y se desarrolla la flora microbiana responsable de la sustitución del olor típico de la carne fresca por el de la carne curada.

Díaz (1993) encontró una serie de compuestos volátiles responsables de los aromas del jamón serrano tales como hidrocarburos, aldehídos, cetonas, alcoholes y furanos. En jamones curados franceses se identificaron más de 80 compuestos volátiles relacionados con el aroma y en jamones ibéricos más de 64 (Aristoy y Toldrá, 1995).

El aroma más característico del jamón curado es el denominado aroma a curado o añejo, que algunos autores consideran como dos matices diferentes (Arnau, 2000). Es un aroma agradable y complejo con algunas variaciones según la materia prima utilizada y el proceso. Aumenta con la disminución del contenido de agua. Está relacionado con la oxidación de la grasa, así, Gou y col. (2000) encontraron mayor intensidad del aroma añejo en jamones a los que se les efectuó un corte en V de la piel, los cuales, al exponer mayor superficie de grasa al aire, sufrieron una mayor oxidación de la grasa superficial, produciéndose sustancias que difundieron hacia el interior del jamón. Por otro lado, Sánchez-Molinero y col. (2000) encontraron una nota añeja menor en jamones elaborados en atmósfera con un contenido de oxígeno inferior al 3%. Una elevada concentración de cloruro sódico aumenta la intensidad del flavor a curado, en cambio, la concentración de nitrato y nitrito puede reducirse sin que afecte al sabor (Aristoy y Toldrá, 1995).

#### **5.0.2 Medida de la calidad sensorial**

Para medir la calidad sensorial de un producto se pueden utilizar análisis químicos e instrumentales, pero por muy detallados que sean, no son suficientes, pueden completar la información del análisis sensorial, pero no sustituirlo. Generalmente, las pruebas y determinaciones químicas y bioquímicas, así como

las medidas físicas y fisico-químicas, son más rápidas, simples, exactas y reproducibles, pero su información sobre la calidad es insuficiente. Los sistemas de medida instrumentales de las características organolépticas sólo son efectivos si ofrecen valores similares a las pruebas de evaluación sensorial. La Tabla 5.3 recoge las ventajas e inconvenientes de las medidas sensoriales frente a las instrumentales.

**Tabla 5.3** Ventajas e inconvenientes de los métodos sensoriales e instrumentales de evaluación de la calidad organoléptica (Muñoz y col., 1992).

	<b>MÉTODOS INSTRUMENTALES</b>	<b>MÉTODOS SENSORIALES</b>
<b>VENTAJAS</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Sencillos</li> <li>-Rápido tratamiento de los datos</li> <li>-Continuos (sin restricción en el número de productos/muestras evaluados)</li> <li>-Precisos</li> <li>-Reproducibles</li> <li>-Buena relación eficiencia/precio</li> <li>-Compatibles con otros instrumentos</li> <li>-Un operador es suficiente</li> <li>-Objetivos</li> <li>-Poca cantidad de muestra</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Son medidas directas de los atributos sensoriales</li> <li>-Proporcionan información que ayuda a la mejor comprensión de las respuestas de los consumidores</li> <li>-Pueden ser realizados con pocos medios materiales</li> <li>-Proveen medidas integradas de varios atributos</li> <li>-Sensibles</li> </ul>
<b>INCONVENIENTES</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Ofrecen resultados indirectos. No miden parámetros de calidad reales</li> <li>-No existen medidas instrumentales relacionadas con medidas sensoriales</li> <li>-Incapacidad de una medida instrumental para predecir una respuesta sensorial</li> <li>-Incapacidad de los instrumentos para medir todos los componentes que influyen en la respuesta sensorial global</li> <li>-Menor sensibilidad de algunos métodos que la sensibilidad humana</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Son largos</li> <li>-Poco estables en el tiempo</li> <li>-Exigen muchos evaluadores</li> <li>-Son a menudo criticados como subjetivos</li> <li>-A veces son poco precisos</li> <li>-Necesitan mucho producto (destructivos)</li> </ul>

Se han utilizado diferentes descriptores para definir la calidad sensorial del jamón curado. En la Tabla 5.4 aparece un resumen de los principales descriptores y de la técnica de evaluación utilizada por diversos autores en la evaluación sensorial de este producto (Guerrero y col., 1998).

**Tabla 5.4** Descriptores y técnicas utilizadas para la evaluación sensorial del jamón curado (ampliado de Guerrero y col., 1998).

DESCRIPTORES SENSORIALES	MUESTRA	REFERENCIA
Dureza, desmenuzabilidad, pastosidad, adhesividad, brillo, sabor salado	Lonchas de 2 mm de espesor cortadas de la zona central. Evaluación en el músculo BF	Arnau y col. (1998)
Añejo, coquera, pienso, floral	Lonchas de 2 mm de espesor cortadas de la zona central. Evaluación en el músculo BF, SM y ST	Sánchez y Arnau (1998)
Brillo, pastosidad, desmenuzabilidad, salado, dureza, picante, velo blanco, cristales de tirosina	Trozo de la zona central, perpendicular al fémur y en el centro de éste. Evaluación sobre lonchas de 2 mm de espesor en BF	Arnau y col. (1997a)
Color rojo, homogeneidad color, brillo, graso, presencia de cristales de tirosina, olor añejo, sabor salado, ácido, amargo, flavor a rancio, a añejo, a carne fresca, a grasa fresca, a mantequilla, fibrosidad, sequedad, suavidad	Trozo de la zona central, perpendicular a la articulación. Evaluación del BF	Virgili y col. (1997)
Color rojo y homogeneidad del color en SM, BF y ST, bitonalidades en ST y firmeza del magro	Jamón deshuesado dividido en cuartos. Evaluación sobre loncha recién cortada	Chizzolini y col. (1996)
Brillo, veteado, pastosidad, desmenuzabilidad, intensidad del flavor a curado, salado, picante, coquera (agujeros), conformación	Loncha de 10 cm de espesor cortada perpendicular al fémur en su zona central. Evaluación sobre lonchas de 2 mm de espesor en BF	Guerrero y col. (1996)
Color blanco grasa subcutánea, oscuridad del magro en SM y BF, brillo en BF, veteado en SM, BF y ST. Sobre BF: dureza, desmenuzabilidad, pastosidad, adhesividad, salado, picante, amargo	Lonchas de la zona central incluyendo SM, BF y ST. Evaluación en lonchas de 2 mm de espesor	Gou y col. (1995)
Salado, flavor a jamón curado, amargo, dureza, velo blanco, decoloración	Lonchas de 2 mm de espesor cortadas perpendicularmente al fémur. Se evalúan SM, BF y ST	Virgili y col. (1995)

SM: *Semimembranosus*; BF: *Biceps femoris*; ST: *Semitendinosus*

**Tabla 5.4** Descriptores y técnicas utilizadas para la evaluación sensorial del jamón curado (ampliado de Guerrero y col., 1998). (Continuación).

DESCRIPTORES SENSORIALES	MUESTRA	REFERENCIA
Frutos secos, queso, carnosos, grasos, salados, pasados/rancios	Lonchas de 1 mm de espesor de la zona central incluyendo SM, BF y ST	Hinrichsen y Pedersen (1995)
Intensidad y homogeneidad del color (loncha entera), intensidad del olor a jamón curado, a carne cruda, a carne curada, a grasa y a rancio. Intensidad del sabor a jamón, a carne cruda, a carne curada, a grasa, a rancio, salado y ácido. Textura firme, seca, blanda y fibrosa	Loncha perpendicular al fémur en su zona central. Evaluación en BF	Buscailhon y col. (1995)
Dureza	Lonchas de 1 mm de espesor de la zona central del jamón incluyendo SM, BF y ST	Parolari y col. (1994)
Salado, curado, ácido, amargo, mantequilla, carne fresca	Lonchas de 1 mm de espesor de la zona central del jamón incluyendo SM, BF y ST	Parolari (1994)
Firmeza, seco, fibroso, blando, salado, ácido. Intensidad del flavor a curado, a jamón curado, a carne fresca, a grasa. Rancio, metálico. Persistencia del aroma a jamón curado, a metálico, del gusto después de tragarse la muestra y de la astringencia	Parte final (hacia la cadera) del músculo BF	Buscailhon y col. (1994a)
Evaluación visual: blancura de la grasa subcutánea, oscuridad del magro de SM y BF, brillo en BF, veteado en BF, SM y ST. Evaluación de textura y flavor en BF: dureza, desmenuzabilidad, pastosidad, adhesividad, flavor salado, picante, amargo	Evaluación visual efectuada en la superficie de corte próxima al isquión que comprende SM, BF y ST. Evaluación de textura y flavor en el BF procedente de lonchas de 2 mm de espesor	Oliver y col. (1994)
Curado, olor a curado, salado, ácido, amargo, mantequilla, carne fresca	Lonchas de 1 mm de espesor de la zona central del jamón (SM, BF y ST)	Careri y col. (1993)
Salado, picante, aroma de jamón, de carne cruda, de grasa, de carne, rancidez y persistencia del aroma a jamón	Muestras de BF	Berdagué y col. (1993)
Intensidad y homogeneidad del color rojo, contenido en grasa, aroma a humo, a carne, ternura, jugosidad, fibrosidad, flavor a humo, salado, a jamón/carne, aceptabilidad global	Lonchas de 3 mm de espesor	Eadie y col. (1990)

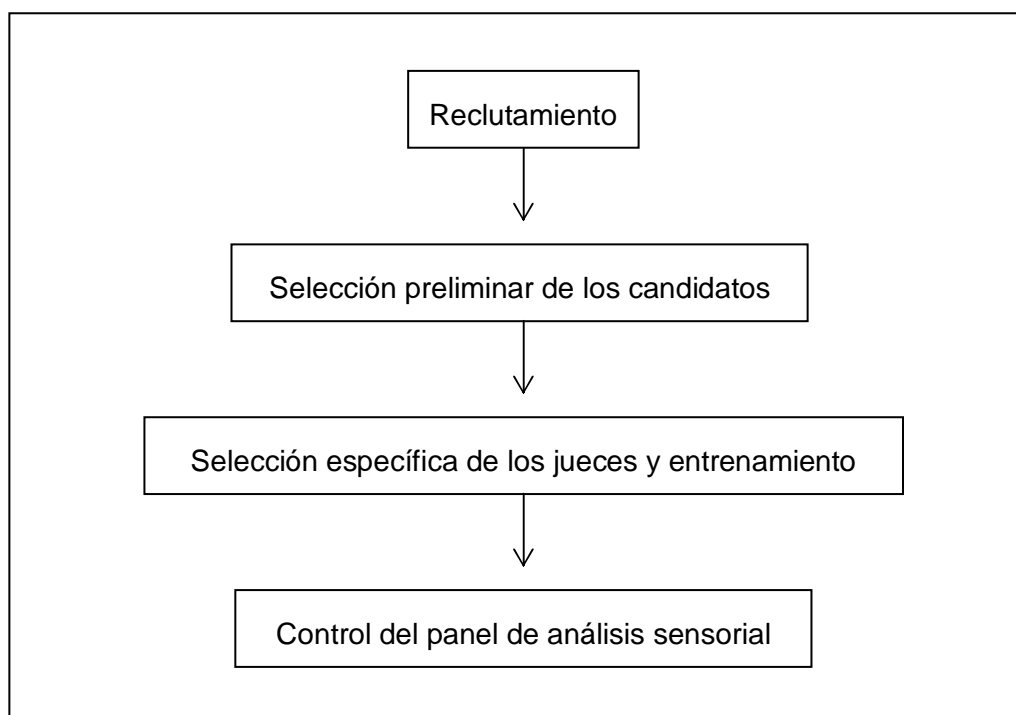
SM: *Semimembranosus*; BF: *Biceps femoris*; ST: *Semitendinosus*

## 5.1 SELECCIÓN, ENTRENAMIENTO Y CONTROL DE UN PANEL DE ANÁLISIS SENSORIAL EN LA EMPRESA

Un panel de análisis sensorial es comparable a un instrumento de medida cuyos resultados, sensibilidad, precisión y reproducibilidad dependerán de los miembros que lo formen y de las condiciones en las que se obtengan las valoraciones de los jueces (Guerrero, 1994).

Como todo instrumento de medida requiere una puesta a punto, una calibración y unas revisiones periódicas, para que sus resultados sean fiables.

La puesta en marcha del grupo de evaluación sensorial incluye varias etapas (Figura 5.1): reclutamiento, selección preliminar, selección específica, entrenamiento y control del grupo (fiabilidad de las respuestas, repetibilidad individual y colectiva...) (Nicod, 1990).



**Figura 5.1** Etapas en la formación del panel de análisis sensorial interno de la empresa.

### **5.1.1 Reclutamiento**

Se reclutaron 38 candidatos entre el personal de las oficinas de la empresa por medio del departamento de Recursos Humanos. No se incluyeron a personas que profesionalmente estaban muy relacionadas, a nivel técnico o comercial, con el producto a examinar (jamón), porque podían introducir sesgos en los resultados. Tampoco se reclutó a personal de estatus jerárquico superior a la mayoría de los componentes del panel. La participación fue completamente voluntaria.

### **5.1.2 Selección**

Se realizó la selección de los 38 reclutados siguiendo criterios fisiológicos y psicológicos. Las aptitudes psicológicas se consideraron más importantes que las fisiológicas en la selección de los integrantes del panel (Civille y Szczesniak, 1973), ya que el conocimiento de las características de la personalidad permite detectar individuos con rasgos dominantes o excesivamente tímidos, los cuales se evitaron en beneficio del buen funcionamiento del grupo.

La selección se realizó en dos etapas (Guerrero, 1995):

#### **a) Selección preliminar**

Se realizó una selección preliminar para conseguir candidatos interesados en el análisis sensorial, con facilidad para concentrarse, comprender las preguntas de los cuestionarios, describir sensaciones, comportamiento adecuado para formar parte del panel (cooperación, motivación y disponibilidad de tiempo), y sin problemas fisiológicos que mermaran su capacidad sensorial (augesias, anosmias, incorrecta visión de los colores, prótesis dentales, alergias).

Se convocó a los candidatos y se les explicó la finalidad de las pruebas de análisis sensorial, horario, días, permanencia en el tiempo, y las normas básicas para realizar una cata: no fumar, no utilizar maquillajes o perfumes, horarios de

comida, etc. Después rellenaron un cuestionario de 50 preguntas con el que se obtuvo la siguiente información: datos personales, estudios, disponibilidad de tiempo, motivación, aspectos de salud, consumo de tabaco, rasgos psicológicos mínimos, hábitos alimenticios, capacidad de comprensión/descripción, fluidez verbal, conocimientos sobre las características sensoriales del jamón curado. También realizaron un test de agudeza visual para conocer su aptitud en la utilización de escalas. Se midió el tiempo que tardó cada individuo en rellenar el cuestionario. Se valoró especialmente la motivación del sujeto y su disponibilidad de tiempo, ya que es importante la asistencia a todas las sesiones o al menos, a un 80% de las mismas (ASTM, 1981).

#### b) Selección específica

Se realizó una selección específica a partir de la aptitud sensorial de cada individuo. Es importante remarcar que la selección de los sujetos en función de sus aptitudes sensoriales no es aconsejable hasta que todos hayan recibido cierto entrenamiento (Nicod, 1990).

Se realizaron dos pruebas sensoriales siguiendo la Norma UNE 87-003-95 (1997):

- *Prueba de reconocimiento de los sabores fundamentales*: consistió en presentar a cada catador seis vasos identificados correspondientes a los sabores fundamentales. Se utilizaron disoluciones con las siguientes concentraciones: 16 g/L de sacarosa para la identificación del sabor dulce, 2 g/L de cloruro sódico para el sabor salado, 0,6 g/L de ácido cítrico para el sabor ácido, 0,27 g/L de cafeína cristalizada para el amargo, 0,595 g/L de glutamato de sodio para el umami y 0,01 g/L de sulfato de hierro (II) para el metálico. Se enseñó a reconocer los sabores y a localizar las sensaciones responsables de los mismos en la cavidad bucal. Después se presentaron diez vasos identificados bajo clave, seis de los cuales contenían las mismas disoluciones empleadas en el reconocimiento de los sabores fundamentales y cuatro agua mineral, se contabilizaron los aciertos de cada individuo. Esta



prueba sirvió para conocer la capacidad inicial de identificar los sabores de cada juez.

- *Prueba para conocer el umbral de detección* (cantidad mínima de estímulo necesaria para originar una sensación) y *de identificación* (cantidad mínima de estímulo que permite identificar la sensación percibida) de cada juez. Se utilizaron muestras ordenadas en concentración creciente de cloruro sódico desde 0,16 a 0,98 g/L, se pidió a los jueces que indicaran en qué muestra detectaron sensación diferente al agua mineral y en cuál reconocieron el sabor. Con esta prueba se evaluó la capacidad de discriminación entre estímulos y la habilidad para diferenciar intensidades de cada individuo.

Una vez finalizadas las pruebas iniciales de selección de jueces legos, de los 38 candidatos reclutados, se seleccionaron 24. La selección específica continuó durante la etapa de entrenamiento.

### **5.1.3 Entrenamiento**

La variación de la respuesta sensorial es inherente a cualquier grupo de personas participantes en las pruebas, no obstante, con entrenamiento, un mismo grupo de personas con aptitudes puede proporcionar respuestas individuales muy concordantes. La etapa de entrenamiento se inició con 24 jueces, cantidad dos veces superior al número requerido para el panel (UNE 87 024-1-95, 1997). Durante esta etapa se mejoraron las capacidades individuales de los miembros del panel para reconocer e identificar atributos sensoriales en jamón serrano, así como su sensibilidad y buena memoria para conseguir medidas sensoriales estandarizadas y reproducibles.

### **Perfil descriptivo del jamón serrano**

Las pruebas descriptivas sirven para determinar lo más completamente posible las características de un producto mediante un perfil o conjunto de descriptores cuya intensidad es cuantificada en una escala.

En primer lugar, se realizó el perfil descriptivo del jamón serrano, utilizándose dos muestras de jamón con diferente tiempo de curado y calidad. Se confeccionó una lista de descriptores. Para ello, cada individuo realizó una descripción individual libre no guiada, se dejó al juez sólo con el estímulo, obligándole a buscar los términos que mejor describían sus percepciones. Mediante esta técnica se generó un número elevado de términos que fueron discutidos conjuntamente por los integrantes del panel. Cada juez expuso libremente los atributos que fue reconociendo en las dos muestras mediante los órganos de los sentidos: vista, tacto, olfato y gusto, en el orden en que fueron percibidos. La discusión estimuló el intercambio de opiniones y se originaron otros atributos nuevos. Se eliminaron los términos poco significativos y redundantes, llegando a un consenso de descriptores.

Se eligieron los siguientes descriptores discriminantes y no correlacionados:

- atributos visuales: intensidad y homogeneidad del color, veteado
- atributos olfativos: olor a jamón curado
- atributos de textura: dureza, jugosidad, gomosidad y el defecto pastosidad
- atributos de sabor: sabor salado, gusto a jamón curado.

Se confeccionó una lista con los atributos seleccionados, su definición precisa y la forma de su evaluación. Los jueces se entrenaron en el uso de escalas para cada uno de estos atributos y en el reconocimiento de defectos sensoriales.

### **Atributos y defectos sensoriales del jamón serrano**

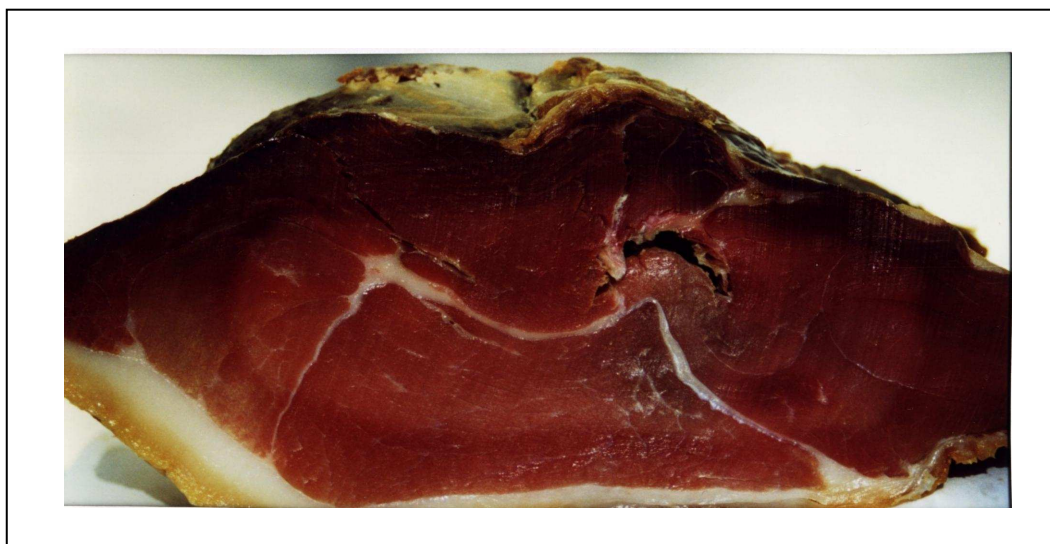
Se utilizaron los siguientes descriptores para definir las características del jamón serrano:

a) Atributos visuales:

- *Intensidad del color del magro*: un color excesivamente pálido se considera defectuoso, lo cual puede ocurrir en cerdos excesivamente jóvenes, sin suficiente grado de madurez (Arnau, 1987a).

- *Veteado*: se refiere a la cantidad de grasa infiltrada presente en la muestra.

- *Halos de color o corazón*: es un defecto tecnológico ocasionado por la falta de nitrificación en el centro de la pieza y consiste en la aparición de un color rojo diferente, generalmente más claro, en dicha zona (Figura 5.2). Las causas pueden ser, entre otras (Arnau, 1998a), la insuficiente adición de nitrito, la destrucción del nitrito añadido por reacción con sustancias de la carne, el pH bajo de la pieza que favorece la descomposición del nitrito a óxido nítrico, la distancia elevada a recorrer debido al tamaño y/o conformación del jamón.



**Figura 5.2** Halos de color o corazón en una sección transversal del jamón curado.

b) Atributos y defectos de olor:

- *Intensidad del olor a jamón curado*: se refiere al olor añejo típico del jamón curado, rancidez incipiente agradable (Guerrero y col., 1998).

- *Olores indeseables considerados defectos*, entre los que destacan como más usuales:

- *Coquera*: olor a lugar húmedo cerrado, debido al crecimiento de *Micrococcus* y *Staphylococcus* (Hugas y Arnau, 1987), hongos y ácaros en huecos originados alrededor del hueso coxal por una deshidratación brusca.
- *Sexual*: también se conoce como "olor a verraco" y recuerda en cierto modo al olor a orina. Es debido a la presencia de androstenona en la grasa de los jamones procedentes de machos no castrados, y/o al escatol que puede encontrarse en cerdos machos, hembras y castrados (Hansson, 1980), tanto en el magro como en la grasa.
- *Fecal*: olor a animal, a cerdo, se relaciona con la presencia de escatol (Guerrero y col., 1998).
- *Carne cruda*: deficiencia en el tiempo de curado. La aparición de este olor se ha relacionado con la existencia de determinados compuestos volátiles como alcoholes y aldehídos (Careri y col., 1993). Cross y Ziegler (1965) detectaron elevada cantidad de pentanal y hexanal en carne sin curar.
- *Cocido*: debido posiblemente a la existencia de una humedad elevada en el interior de la pieza y temperaturas demasiado altas durante el proceso de curado.
- *Olor ácido*: puede aparecer como olor residual en jamones que han estado durante algún tiempo envasados a vacío. También se ha asociado este olor con la presencia de los ácidos fórmico, acético, butírico, propiónico, ácidos de

cadena más larga y otros ácidos orgánicos, y puede deberse a la acción de enzimas de la carne, producción anaeróbica de ácidos grasos y ácido láctico por acción bacteriana, proceso proteolítico causado por bacterias microaerófilas o anaerobias (Arnau y Hugas, 1987).

- *Rancio*: provocado por una oxidación excesiva e indeseable de la grasa, debida generalmente a la alimentación que reciben los animales. El jamón exteriormente presenta un color más oscuro de lo normal y una menor consistencia de la grasa debida a la presencia de elevados porcentajes de ácidos grasos polinsaturados, como linoleico y linolénico, y menor cantidad de ácido oleico, palmítico y esteárico (Arnau, 1987b).
- *Pescado*: relacionado con la presencia de trimetilamina, que se produce al alimentar a los cerdos con harina de pescado. También puede provenir de la degradación de la colina por la microflora digestiva (Arnau, 1987a). Se ha encontrado olor a pescado en jamón ibérico con un tiempo de maduración excesivo (García y col., 1995). Este olor desagradable suele ir acompañado de una grasa de textura blanda y aceitosa (Arnau, 1991).
- *Cordero*: relacionado con jamones procedentes de animales alimentados con grasa de cordero (Díaz y col., 1987).

c) Atributos y defectos de textura:

- *Dureza*: se definió como la fuerza necesaria para deformar la muestra en el primer mordisco entre los molares. Una textura demasiado blanda o excesivamente dura fue considerada defectuosa. La dureza depende principalmente de la cantidad de tejido conjuntivo y de la presencia de grasa infiltrada (Virgili y col., 1998a).

- *Gomosidad*: se definió como el esfuerzo requerido para reducir al producto al estado necesario para su deglución. Se consideró una medida de la cantidad de fibras detectadas durante la masticación. La tendencia de la muestra

a separarse en fibras y la resistencia de éstas a perder su estructura depende de la cantidad de grasa intramuscular, del tejido conectivo y del tamaño de los haces de fibras musculares (García y col., 1995).

- *Jugosidad*: medida de la cantidad de jugo liberado por la muestra durante la masticación. La sensación de jugosidad se origina por dos componentes, la humedad que se produce al iniciarse la masticación, debida a la liberación de jugos procedentes de la carne, y el efecto estimulante de la grasa sobre el flujo salivar, siendo ésta más duradera que la inicial. Por tanto, la sensación de jugosidad está más relacionada con el contenido graso. La jugosidad también puede estar influida por la sal, que estimula la secreción salivar (García y col., 1995).

- *Pastosidad*: se consideró un defecto caracterizado por una textura excesivamente blanda y adhesiva. El panel asemejó la textura pastosa a la “plastilina”. Este defecto puede estar ligado a otras propiedades sensoriales indeseables como sabor amargo, gusto picante y leve intensidad en el aroma a jamón curado. Según Arnau (1998a), la textura pastosa puede estar ocasionada por un pH elevado de la materia prima, utilización de una carne con alto potencial proteolítico (Virgili y col., 1995), por la presencia de grasa intramuscular e intermuscular que dificulte el salado y el secado, por un contenido bajo de sal o bien por una temperatura de procesado elevada (Arnau y col., 1997b).

d) Atributos y defectos de sabor:

- *Sabor salado*: se refiere a la intensidad del sabor salado percibido por las papilas gustativas. Se considera como defecto cuando es excesivo o insuficiente.

- *Intensidad de gusto a jamón curado*: se refiere a la intensidad del flavor descrito como rancidez agradable producido por una ligera oxidación de la grasa.

- *Gustos desagradables considerados defectos*: los más usuales coinciden con los olores indeseables más frecuentes, son:

- *Coquera*
- *Sexual*
- *Fecal*
- *Carne cruda*
- *Cocido*
- *Rancio*
- *Pescado*
- *Cordero*
- *Moho*: también descrito como sabor a cueva, a champiñón, es debido a la presencia de 1-octen-3-ol (García y col., 1991).
- *Sabor amargo*: debido a la existencia de péptidos con sabor amargo liberados durante la proteólisis, a la presencia de sales de magnesio en la sal común o a un exceso de nitrato potásico (Arnau, 1987a).
- *Sabor ácido*

### **Escalas de evaluación de los atributos**

Se utilizaron escalas de intervalos no estructuradas para valorar los atributos de olor a jamón curado, dureza, jugosidad, gomosidad, sabor salado y gusto a jamón curado. Se utilizaron líneas horizontales de 12 cm de longitud con dos puntos de anclaje, en 1 cm (ausencia o levedad de sensación) y 11 cm (máxima sensación percibida posible). En las escalas de gomosidad y de sabor

salado se incluyó un anclaje central a 6 cm. Para la valoración de los atributos visuales se utilizaron escalas de intervalo estructuradas: en la escala de intensidad del color se marcaron 4 puntos dentro de la línea y en la de veteado se marcaron 5 puntos, que se correspondieron con fotografías de referencia.

Es fundamental que todos los términos utilizados tengan el mismo significado para todos los catadores, por ello se escogieron cuidadosamente las muestras de referencia para construir las escalas de intensidad.

### **Programa de entrenamiento**

En la Tabla 5.5 aparece el programa de entrenamiento en el uso de escalas y reconocimiento de defectos que siguió el grupo de jueces seleccionados para la realización del análisis cuantitativo descriptivo (QDA) del jamón serrano. Se efectuaron 22 sesiones, con una frecuencia de 1 sesión por semana.

Al término de cada sesión se pusieron en común los resultados y los diferentes puntos de vista, corrigiendo y consensuando las opiniones de los miembros del panel. Se realizaron recordatorios de escalas ya aprendidas en las sesiones que fue posible procurando no ocasionar la fatiga de los jueces.

### **Iniciación y entrenamiento en la detección de olores propios del jamón**

Mediante el entrenamiento se enseñó a los jueces a evaluar e identificar olores presentes en el jamón curado, a utilizar el vocabulario apropiado y permitirles mejorar sus aptitudes individuales. Se les entrenó en el uso de la escala de intensidad del olor a jamón curado.

*Sesión 1:* se estandarizó el procedimiento de análisis del olor de las muestras, aconsejando a los jueces que olieran con la boca cerrada y mediante olfacciones cortas. Se usaron disoluciones de productos químicos puros en etanol (Tabla 5.6), ya que las impurezas pueden modificar la naturaleza e



intensidad del olor. Se pasaron frascos topacio sin identificar, cada juez anotó a lo que olían según su criterio personal, después se les comunicó la sustancia química a la que correspondía cada olor y, por último, olieron todas las fragancias con objeto de que las recordasen y memorizasen. Identificaron tres muestras problema.

**Tabla 5.5** Programa de entrenamiento en el uso de escalas y reconocimiento de defectos seguido por el grupo de jueces seleccionados inicialmente para la realización del análisis cuantitativo descriptivo (QDA) del jamón serrano.

SESIÓN	ACTIVIDAD	ATRIBUTO
1	Reconocimiento de olores mediante sustancias químicas	OLOR
2	Reconocimiento de olores mediante muestras de jamón	
3 y 4	Entrenamiento en la utilización de la escala de intensidad del olor a jamón curado	
5	Entrenamiento en la utilización de las escalas de intensidad del color del magro y veteado	VISUAL
6	Definición de la dureza en alimentos	TEXTURA
7	Perfil de textura	
8	Entrenamiento en la utilización de la escala de dureza	
9	Entrenamiento en la utilización de la escala de jugosidad	
10	Entrenamiento en la utilización de la escala de gomosidad	
11	Reconocimiento de la textura pastosa	
12 y 13	Evaluación de todos los atributos de textura	SABOR
14, 15 y 16	Entrenamiento en la utilización de la escala del sabor salado	
17 y 18	Entrenamiento en la utilización de la escala de intensidad del gusto a jamón curado	
19 y 20	Reconocimiento de defectos del gusto o deajo	
21 y 22	Evaluación completa de todos los atributos	

**Tabla 5.6** Disoluciones de sustancias químicas puras correspondientes a olores presentes en el jamón curado.

OLOR	SUSTANCIA QUÍMICA	DISOLUCIÓN
Fecal	Escatol	100 ppm
Sexual	5-androst-16-en-3-ona	*
Moho	Indol	100 ppm
	Ácido isovalérico	100 ppm
Rancio	Hexanal	100 ppm
	Ácido butírico	100 ppm
Frutos secos	1-etilhexiltiglato	1 ppm
Pescado	Trimetilamina	1 ppm

\* No se preparó disolución, se olió directamente del envase

*Sesión 2:* se mostraron los olores indeseables más frecuentes que pueden aparecer en el jamón curado y que están considerados defectos: coquera, sexual, fecal, rancio, pescado, carne cruda, cocido, cordero. Se utilizaron frascos topacio que contenían muestras de jamón con ese olor, dejando suficiente espacio de cabeza. Se procedió de igual forma que en la sesión 1.

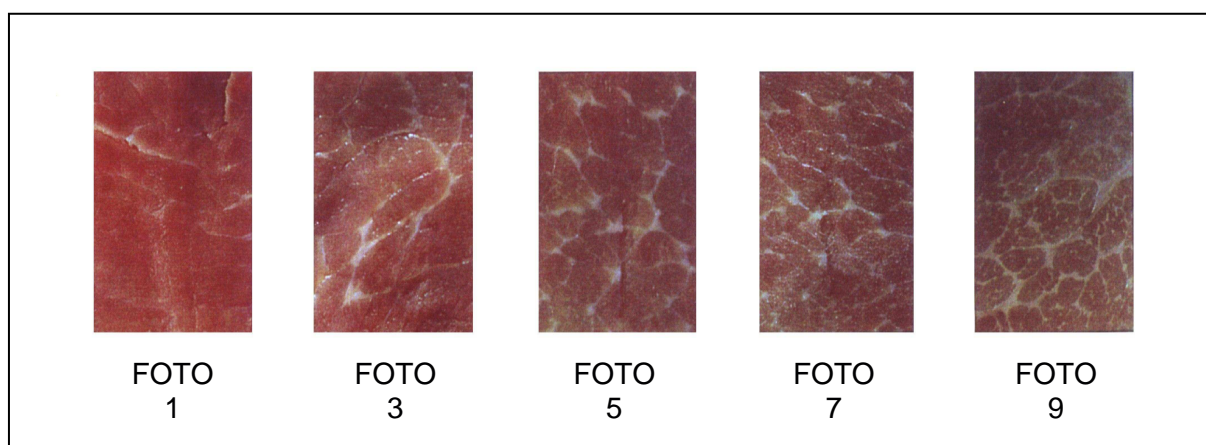
*Sesión 3 y 4:* se entrenó a los jueces en la utilización de la escala de la intensidad del olor a jamón curado. Se utilizaron muestras de jamón con diferente tiempo de curado y distintas mermas, desde 6 hasta 18 meses de curado.

### **Entrenamiento en el uso de escalas para la valoración de atributos visuales del jamón curado**

Se entrenó a los jueces en el uso de escalas en las que se utilizaron fotografías de la superficie de corte de jamones como puntos de referencia.

En la valoración de la intensidad del color se marcaron 4 puntos dentro de la escala correspondientes a fotografías desde jamones con el músculo *Biceps femoris* pálido hasta demasiado oscuro (Figura 5.3). A mayor puntuación le correspondió una intensidad superior. Una valoración igual o superior a 8 corresponde a un jamón con color excesivamente oscuro. Una puntuación igual o inferior a 2 corresponde a un jamón con color excesivamente claro.

En la valoración del veteado se marcaron 5 puntos que se correspondieron con fotografías desde un jamón muy magro (puntuación 1) hasta un jamón con elevada infiltración de grasa (puntuación 9) (Figura 5.4).



**Figura 5.4** Escala de veteado del jamón curado.

Se enseñó a los jueces a reconocer el defecto tecnológico denominado halos de color o corazón (Figura 5.2).

*Sesión 5:* se presentaron 3 muestras a los catadores del músculo *Biceps femoris* de jamones curados, a las que puntuaron su intensidad del color, grado de veteado y la presencia o ausencia de halos de color o corazón.

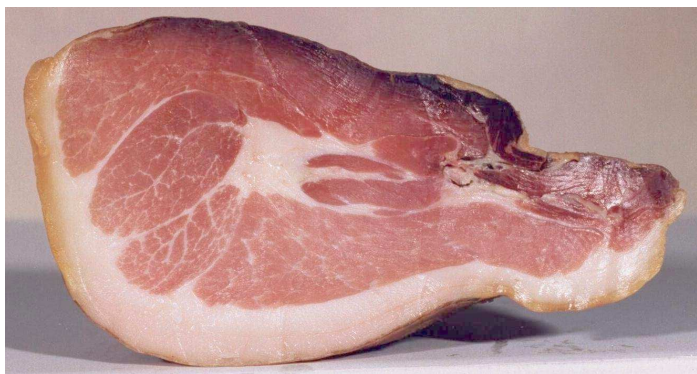


FOTO 2

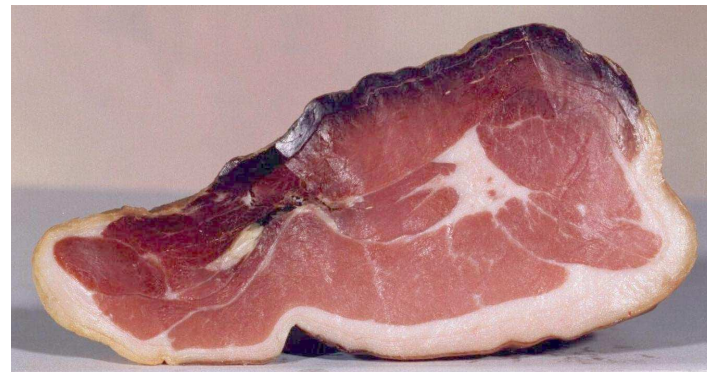


FOTO 4

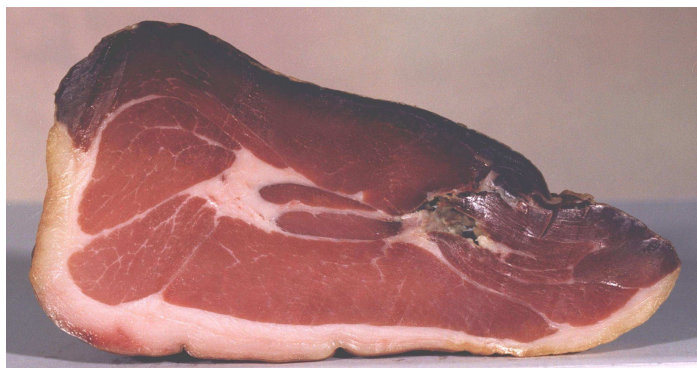


FOTO 6

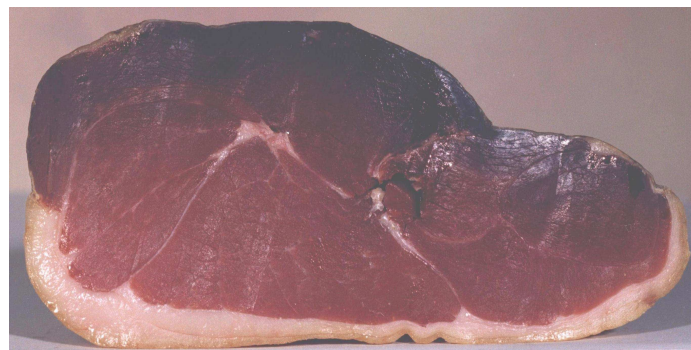


FOTO 8

**Figura 5.3** Escala de intensidad de color del magro de jamón curado.

## **Entrenamiento en el uso de escalas para la evaluación de atributos de textura del jamón curado**

*Sesión 6:* se explicó a los jueces la definición de dureza así como el procedimiento para su evaluación (se coloca la muestra entre los molares y se evalúa la fuerza necesaria para comprimirla). Se enseñó el significado del término dureza mediante la ordenación creciente de diferentes alimentos según la Norma UNE 87-025-96 (1997) (clara de huevo, salchichas de frankfurt, queso de barra americano, aceitunas, cacahuets, zanahorias).

*Sesión 7:* Se realizó un perfil de textura siguiendo la Norma UNE 87-025-96 (1997), para la descripción de la textura del jamón en función de sus características mecánicas, geométricas, de las relacionadas con su contenido en grasa y en humedad, de la intensidad de cada una de ellas y del orden en que se perciben desde el primer bocado hasta el final de la masticación y de la deglución.

Las características mecánicas de un alimento son las que se ponen de manifiesto cuando actúan sobre él fuerzas externas. Las propiedades geométricas se perciben por los receptores táctiles localizados en la lengua, la cavidad bucal y la garganta y normalmente se reflejan en el aspecto de los alimentos.

El orden en el que se perciben las características de textura de un alimento es el siguiente:

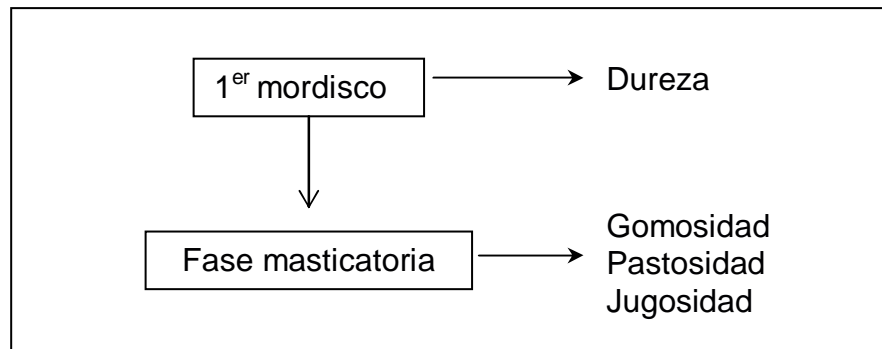
1.- Antes de introducirlo en la boca (mediante la vista o la propia manipulación del alimento): propiedades geométricas y propiedades relacionadas con el contenido en grasa y humedad.

2.- Al primer mordisco: propiedades mecánicas, geométricas, y relacionadas con el contenido de grasa y humedad.

3.- Durante el proceso de masticación: propiedades perceptibles durante la reducción de tamaño del alimento.

4.- Deglución: propiedades como la facilidad para tragar el alimento.

La evaluación de las propiedades de textura del jamón (una vez metida la muestra en la boca), que anteriormente definió el panel en la redacción de la lista de atributos, quedó estandarizada (Figura 5.5).



**Figura 5.5** Proceso para evaluar los atributos de textura del jamón curado.

*Sesión 8:* entrenamiento en la utilización de la escala de dureza del jamón curado. Se utilizaron jamones con diferente tiempo de curado y mermas. Una valoración igual o superior a 8 corresponde a un jamón excesivamente duro. Una puntuación igual o inferior a 2 corresponde a un jamón excesivamente blando.

*Sesión 9:* entrenamiento en la utilización de la escala de jugosidad del jamón curado. Como muestras de referencia en los anclajes se utilizaron: una paleta correspondiente a la puntuación 0 (jugosidad mínima) y un jamón ibérico para la puntuación 10 (máximo de jugosidad).

*Sesión 10:* entrenamiento en la utilización de la escala de gomosidad del jamón curado. La gomosidad es una medida de la cantidad de fibras detectadas



durante la masticación, una puntuación de 5 corresponde a una gomosidad correcta, aumentando a medida que aumenta la puntuación hasta 10. Para el anclaje correspondiente a puntuación 10 (extremadamente gomoso), se utilizó el músculo *Biceps femoris* de un jamón con textura blanda y 65% de humedad, y para el anclaje correspondiente a puntuación 0 (extremadamente fibroso) se utilizó el músculo *Semimembranosus* de un jamón curado que había sufrido un proceso tecnológico erróneo, en el que durante el estufaje la humedad ambiental fue excesivamente elevada. Guerrero y col. (1998) escogió para este punto el músculo *Semimembranosus* de un jamón curado y cocido posteriormente.

*Sesión 11:* reconocimiento del defecto de textura denominado pastosidad. Se presentaron a los jueces jamones con textura considerada normal y otros con textura pastosa.

*Sesión 12 y 13:* evaluación conjunta de todos los atributos de textura de diferentes muestras.

### **Entrenamiento en el uso de escalas para la evaluación de los atributos de sabor y gusto del jamón curado**

*Sesión 14, 15 y 16:* entrenamiento en la utilización de la escala del sabor salado del jamón curado. Se utilizaron como muestras de referencia jamones con diferente contenido en cloruro sódico, desde 5% (puntuación 1) hasta 17% (puntuación 9) referido a extracto seco. Una puntuación de 5 correspondió a jamones que se encontraron en su punto justo de sal desde punto de vista organoléptico (aproximadamente 12% de cloruro sódico referido a extracto seco). La intensidad del sabor salado no depende solamente de la cantidad de cloruro sódico y de la humedad que contenga la muestra, también depende de la grasa infiltrada, que provoca que las papilas gustativas sean menos sensibles al sabor salado.

*Sesión 17 y 18:* entrenamiento en la utilización de la escala de la intensidad del gusto a jamón curado. Se utilizaron jamones con diferentes

tiempos de curado, desde 6 hasta 18 meses (jamón ibérico). A mayor puntuación le corresponde una intensidad superior.

*Sesión 19 y 20:* reconocimiento de los sabores anormales considerados defectos tecnológicos que aparecen más frecuentemente en el jamón curado. Se probaron muestras con los siguientes defectos: gusto a carne cruda, coquera (moho, cueva), rancio, cocido, cordero, sexual, pescado, sabor amargo, ácido.

*Sesión 21 y 22:* Evaluación completa de los atributos sensoriales en muestras de jamón curado y puesta en común de los resultados.

#### **5.1.4 Control durante la etapa de entrenamiento**

Se siguió la evolución de cada juez mediante la creación de fichas individuales. Se valoró especialmente la motivación del sujeto, su asistencia asidua y puntualidad a las sesiones, lo cual permitió la identificación de los individuos poco motivados.

Se mantuvo la motivación de los integrantes del panel de cata agradeciéndoles su participación, discutiendo con ellos los resultados y mediante pequeñas gratificaciones por su colaboración. Periódicamente se les entregaron informes personales acerca de su evolución y dispersión respecto al resto de los catadores en la valoración de cada atributo.

Una vez concluida la etapa de entrenamiento de los jueces, el panel quedó constituido por 16 catadores. De los 24 jueces que iniciaron la etapa de entrenamiento, 5 cambiaron de centro de trabajo, 1 empezó un régimen alimenticio y 2 asistieron solamente a algunas sesiones por falta de tiempo.

Los catadores realizaron duplicados de cinco de las muestras analizadas, a partir de las cuales y mediante ANOVA se comprobó la repetibilidad de cada juez en la valoración cada atributo.



## 5.2 SALA DE CATA

Los factores ambientales bajo los que se realiza la valoración sensorial pueden provocar perturbación en la apreciación de descriptores, así como una pérdida de la concentración. El control de estos parámetros reducirá esta fuente de error.

Se acondicionó un local como sala de cata siguiendo la Norma UNE 87-004-79 (1997): local de fácil limpieza, aislado de cualquier fuente de ruido exterior y de olores extraños, con iluminación uniforme proporcionada por lámparas de tipo “luz diurna”. La sala se mantuvo en condiciones agradables de temperatura (20-22 °C) y humedad relativa (60-70 por 100).

Las dimensiones del local fueron las suficientes para la instalación de 8 cabinas móviles fabricadas a partir de mesas y mamparas que permitieron el aislamiento de los catadores una vez sentados. Estas dimensiones condicionaron que las sesiones se realizaran en dos turnos.

Las muestras se prepararon en una cocina situada junto a la sala de cata, pero totalmente independiente de la misma.

## 5.3 MUESTRAS

Se analizó el músculo *Biceps femoris* de 30 jamones curados grasos, 10 de cada cruce genético A, B y C.

Se siguieron las reglas básicas en la distribución y presentación de las muestras (Guerrero, 1993):

- c) Anonimato: el catador no debe conocer qué muestra está probando, para ello se utilizó una codificación aleatoria (secuencia número-letra-número) para cada muestra.

- d) Presentación homogénea: todas las muestras se cortaron en lonchas de 2 mm de espesor y se separó el músculo *Biceps femoris* del resto de la loncha en rectángulos de aproximadamente 2,5 x 7 cm. Las muestras se presentaron a los catadores identificadas bajo clave, se sirvieron en platos de plástico, tapadas con papel de aluminio y a una temperatura de 20-22 °C.
- e) Orden de presentación: se presentaron todos los órdenes posibles el mismo número de veces en cada sesión de cata, para atenuar el efecto que puede ejercer el orden de presentación de las muestras en las valoraciones.
- f) Número de muestras: en cada sesión se presentó en primer lugar una muestra para valorar su calidad global y después se realizó el análisis descriptivo cuantitativo de tres muestras más.

#### **5.4 PROCEDIMIENTO PARA REALIZAR LA CATA**

Las sesiones de análisis sensorial se realizaron en dos turnos: a las 11:00h y 11:30h, para evitar el estado de hambre que se genera en horas próximas a las comidas. Se evitó efectuarlas en lunes o viernes (primer y último día de la semana laboral) para evitar la falta de concentración.

Los jueces que sufrían procesos gripales se excluyeron de las pruebas hasta su recuperación.

Se advirtió previamente a los catadores que se abstuvieran de fumar o de consumir alimentos o bebidas, salvo agua, al menos una hora antes de la prueba y no usar cosméticos olorosos.

Antes de iniciar cada sesión se recordaron las normas básicas a los jueces: antes de empezar con la prueba beber agua mineral para eliminar la sed y limpiar la cavidad bucal, proceder sin prisa a la evaluación de cada muestra, oler la muestra mediante olfacciones cortas, probar una cantidad suficiente,

limpiarse la boca con colines de pan y agua mineral después de cada muestra. Se aconsejó a los jueces que tragasen la muestra para detectar el sabor amargo localizado en la parte posterior de la lengua, pero no se les obligó a que lo hicieran, se colocó una escupidera en la mesa para que eliminaran los restos de muestras no tragadas.

En primer lugar, los jueces valoraron la impresión global de una muestra, que consistió en asignar una nota: suspenso (0), aprobado(1), bien (2), notable (3) y sobresaliente (4).

El proceso de análisis quedó estandarizado, todos los miembros del panel examinaron los atributos y defectos del jamón serrano definidos durante la etapa de entrenamiento del panel de la misma forma:

1º Atributos y defectos de olor: intensidad del olor a jamón curado, reconocimiento de defectos en el olor.

2º Atributos y defectos visuales: intensidad del color del magro, veteado (grasa infiltrada), presencia o ausencia del defecto denominado halos de color o corazón.

3º Atributos y defectos de textura: dureza (valorada al primer mordisco), jugosidad y gomosidad (percibidas durante el proceso de masticación), presencia o ausencia de textura pastosa.

4º Atributos y defectos de sabor: sabor salado, intensidad del gusto a jamón curado, reconocimiento de defectos mediante el gusto.

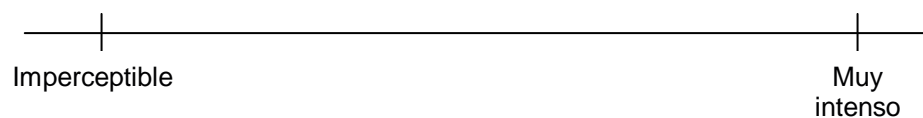
Los jueces rellenaron los formularios que aparecen en las Figuras 5.6, 5.7, 5.8 y 5.9 para el análisis descriptivo cuantitativo de los atributos de olor, visuales, textura y sabor, respectivamente.

NOMBRE: .....

FECHA: .....

**ATRIBUTOS DE OLOR**

Por favor, pruebe las muestras de izquierda a derecha, conteste a las preguntas y marque la intensidad del atributo dentro de la escala con una raya vertical, escriba encima de la rayita la clave de la muestra respectiva:

**1. Intensidad del olor a jamón curado**

**2. Defectos:** indique la presencia (si la hubiera) de olores anómalos: COQUERA, SEXUAL, FECAL, PESCADO, RANCIO, CARNE CRUDA, ÁCIDO, COCIDO, CORDERO,...

CLAVE MUESTRADEFECTOS DE OLOR

Observaciones:

**Figura 5.6** Formulario utilizado en el análisis descriptivo cuantitativo de los atributos de olor del jamón serrano.

NOMBRE: .....

FECHA:.....

**ATRIBUTOS VISUALES**

**1. Intensidad del color del magro**



**2. Veteado**



Observaciones:

**Figura 5.7** Formulario utilizado en el análisis descriptivo cuantitativo de los atributos visuales del jamón serrano.

NOMBRE: .....

FECHA: .....

**ATRIBUTOS DE TEXTURA**

**1. Dureza**

|-----|-----|

Extremadamente                      Extremadamente  
blando                                  duro  
húmedo                                acartonado

**2. Jugosidad**

|-----|-----|

Poco                                      Muy  
jugoso                                  jugoso

**3. Gomosidad**

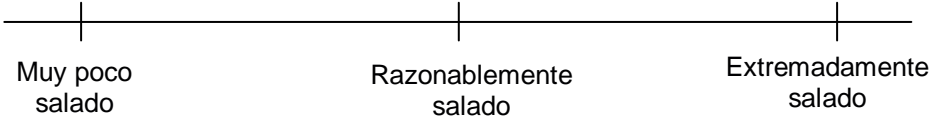
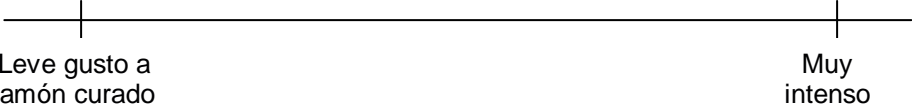
|-----|-----|-----|

Textura no                      Gomosisad                      Textura  
Gomosa                           correcta                           extremadamente  
(Fibrosa)                                                     gomosa  
                                                                             (Chiclosa)

**4. Pastosidad:** Indique con una X la presencia de este defecto

Clave muestra	Pastosidad

**Figura 5.8** Formulario utilizado en el análisis descriptivo cuantitativo de los atributos de textura del jamón serrano.

NOMBRE: .....	
FECHA:.....	
<b><u>ATRIBUTOS DE SABOR</u></b>	
<b>1. Intensidad del sabor salado</b>	
<div style="text-align: center;"></div>	
<b>2. Intensidad del gusto a jamón curado</b>	
<div style="text-align: center;"></div>	
<b>3. Defectos del gusto o dejo:</b> Indique la presencia (si la hubiera) del gusto a COQUERA, SEXUAL, FECAL, RANCIO, CARNE CRUDA, COCIDO, CORDERO, PESCADO, MOHO (CUEVA), SABOR AMARGO, SABOR ÁCIDO,...	
<u>CLAVE MUESTRA</u>	<u>DEFECTO DEL GUSTO</u>
Observaciones:	
Muchas gracias	

**Figura 5.9** Formulario utilizado en el análisis descriptivo cuantitativo de los atributos de sabor del jamón serrano.

## **5.5 PRECISIÓN DEL PANEL DE ANÁLISIS SENSORIAL**

La precisión del panel de cata, entrenado en el análisis sensorial de jamón curado, se expresó como el coeficiente de variación medio para cada atributo sensorial evaluado. Los coeficientes de variación fueron inferiores al 17% en todos los casos. La dureza, la intensidad del color del magro y el sabor salado obtuvieron los valores más bajos, en cambio, la gomosidad apareció con el coeficiente de variación mayor.

## **5.6 RESULTADOS DEL ANÁLISIS SENSORIAL CUANTITATIVO DESCRIPTIVO DE LOS JAMONES CURADOS PROCEDENTES DE LAS GENÉTICAS A, B Y C**

En la Tabla 5.7 se muestran los valores medios y las desviaciones estándar de la mediana de las puntuaciones otorgadas por los catadores a cada atributo sensorial de los jamones de cada cruce genético. No se obtuvieron diferencias significativas entre las genéticas para ningún atributo.

En la Figura 5.10 aparece la representación gráfica en forma de telaraña del análisis cuantitativo descriptivo de los tres cruces genéticos evaluados.

Los tres cruces genéticos presentaron un sabor salado considerado correcto y deseable desde el punto de vista sensorial, ya que obtuvieron una puntuación en torno a 5.

Los jamones pertenecientes al cruce genético B presentaron mayor veteado, jugosidad y gusto a jamón curado.

Los jamones de la genética C fueron los mejor valorados en cuanto a color y resultaron los más duros. Su intensidad del olor a jamón curado fue similar a la de B.

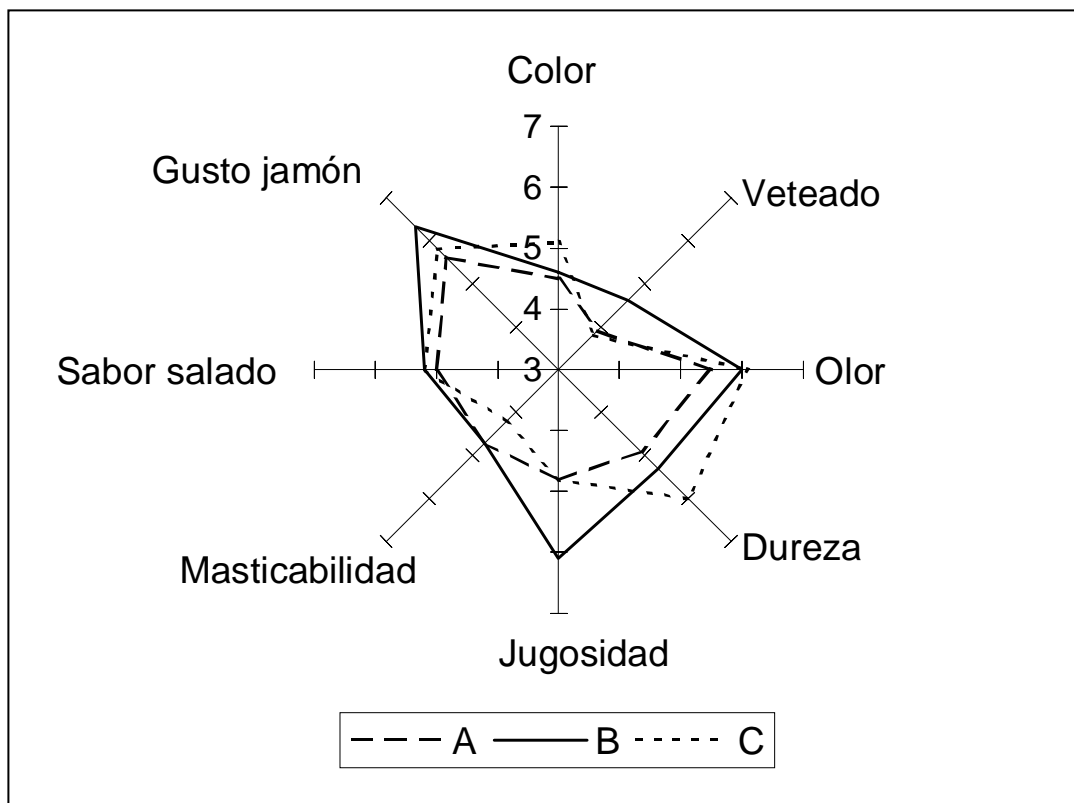


**Tabla 5.7** Valores medios y desviaciones estándar de la mediana de la valoración de los catadores para cada atributo sensorial de los jamones curados de los cruces genéticos A, B y C.

	<b>A</b> (n=10)	<b>B</b> (n=10)	<b>C</b> (n=10)
<b>INTENSIDAD COLOR MAGRO</b>	4,5 ± 0,6	4,6 ± 0,78	5,1 ± 0,8
<b>VETEADO</b>	3,9 ± 1,0	4,6 ± 1,4	3,8 ± 1,3
<b>INTENSIDAD OLOR JAMÓN</b>	5,5 ± 1,2	6,0 ± 0,8	6,1 ± 0,8
<b>DUREZA</b>	4,9 ± 1,0	5,3 ± 1,2	6,0 ± 1,2
<b>JUGOSIDAD</b>	4,8 ± 1,5	6,1 ± 1,4	4,8 ± 1,2
<b>GOMOSIDAD</b>	4,7 ± 1,2	4,7 ± 0,7	4,2 ± 1,0
<b>SABOR SALADO</b>	5,0 ± 0,7	5,2 ± 0,3	5,2 ± 0,5
<b>GUSTO JAMÓN CURADO</b>	5,6 ± 1,2	6,3 ± 0,4	5,8 ± 0,6

Los jamones de la genética A fueron los peor valorados en cuanto a intensidad del olor y gusto a jamón, resultaron ser los más blandos.

La impresión global más favorable fue para los jamones de la genética B, que obtuvieron una calificación de “notable” frente al “bien” de las genéticas A y C. La genética B resultó ligeramente más jugosa y de mayor intensidad del gusto a jamón curado. Por tanto, estos atributos son los que el panel inconscientemente considera como los parámetros más importantes para definir un jamón de calidad, siempre que el sabor salado sea el correcto.



**Figura 5.10** Diagrama de telaraña del análisis cuantitativo descriptivo de los jamones serranos pertenecientes a los cruces genéticos A, B y C.

En cuanto a la valoración de la presencia o ausencia de defectos: aparecieron defectos de olor en 5 de las 30 muestras analizadas, 2 de pertenecientes a la genética A, 1 de la genética B y 2 de la línea C. Se detectaron olor a coquera, a humedad, a rancio, a moho, fecal y olor ácido. En las dos muestras de la genética A también se detectó gusto a coquera, a rancio y a moho.

Por tanto, los tres cruces genéticos proporcionaron jamones curados similares desde el punto de vista sensorial, notándose una pequeña diferencia en el jamón más veteado considerado de mejor calidad por el panel de cata.

### 5.6.1 Análisis de Componentes Principales de las variables sensoriales

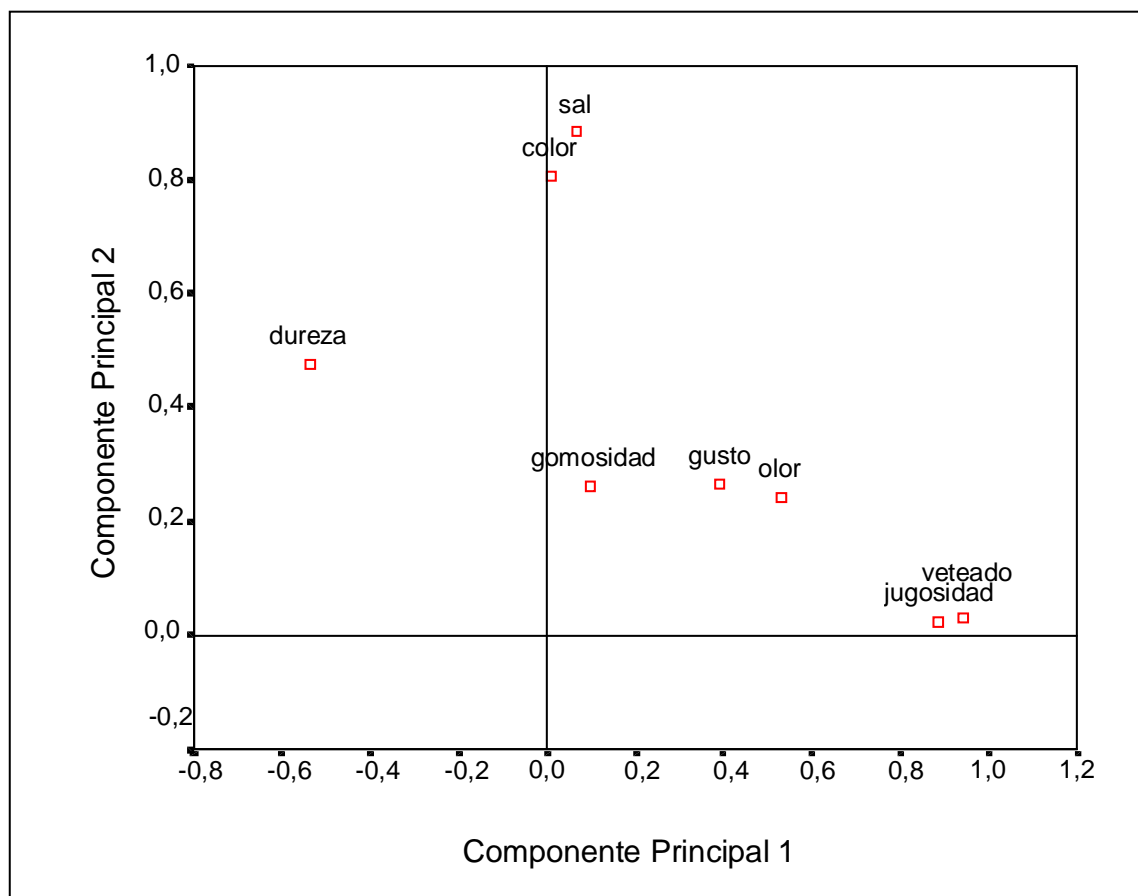
Se aplicó el Análisis de Componentes Principales de los atributos sensoriales para analizar gráficamente las tendencias que presentaron entre sí. Los tres primeros Componentes Principales explicaron el 76% de la varianza total: el primero de los Componentes Principales explicó el 35,4%, el segundo el 24,1% y el tercero el 16,5% de la varianza total. Eadie y col. (1990) analizaron 15 atributos en jamón curado y explicaron un 71,2% con los tres primeros Componentes Principales.

En la Tabla 5.8 aparecen los coeficientes de los atributos sensoriales para el nuevo sistema de coordenadas definido por los tres primeros Componentes Principales. En el primero de los Componentes Principales (CP1) las variables que más influyeron fueron el veteado y la jugosidad, en el Componente Principal 2 (CP2), el sabor salado y la intensidad del color y en el Componente Principal 3 (CP3), la gomosidad.

**Tabla 5.8** Coeficientes ("loadings") de los atributos sensoriales respecto al nuevo espacio definido por los tres primeros Componentes Principales.

	CP1	CP2	CP3
Olor a jamón	0,530	0,241	0,686
Color	0,007	<b>0,807</b>	-0,105
Veteado	<b>0,943</b>	0,031	0,086
Dureza	-0,538	0,475	0,457
Jugosidad	<b>0,884</b>	0,023	0,169
Gomosidad	0,097	0,262	<b>-0,778</b>
Sabor sal	0,064	<b>0,883</b>	0,134
Gusto a jamón	0,390	0,266	0,686

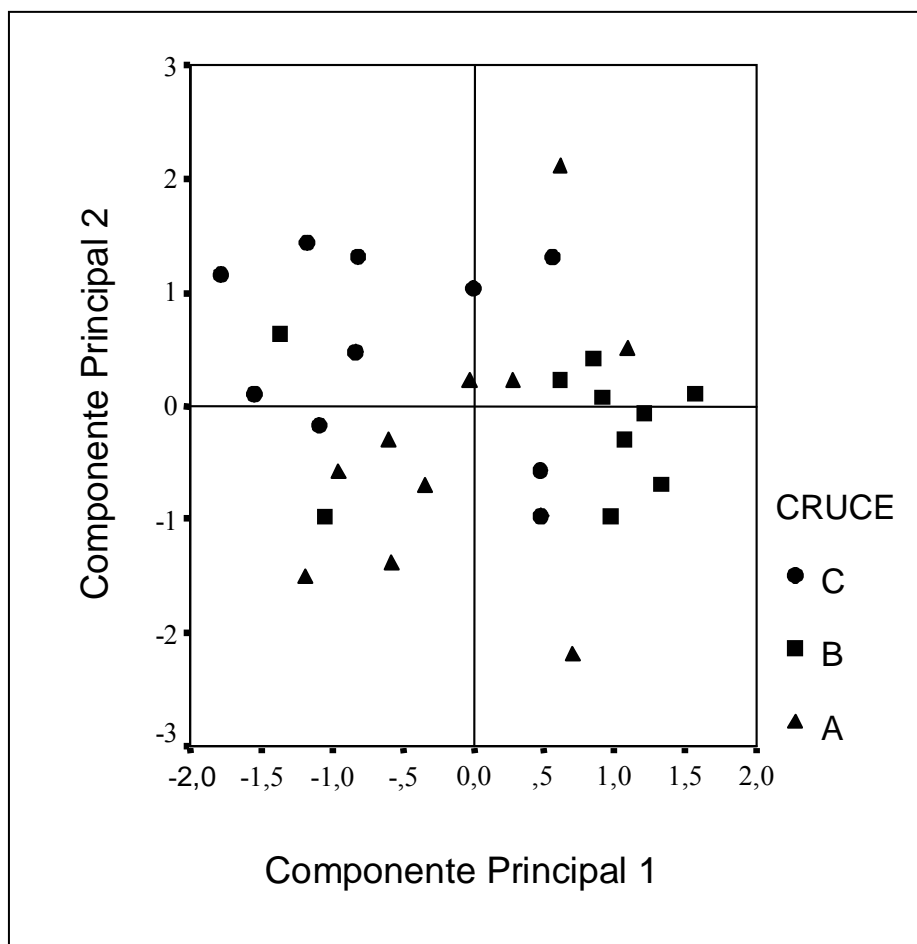
La Figura 5.11 muestra la proyección en el plano de los atributos sensoriales en el espacio definido por los Componentes Principales 1 y 2. Los atributos jugosidad y veteado aparecieron en la parte positiva del CP1, mientras que la dureza lo hizo en la negativa, coincidiendo con los resultados de Bergonzoni y col. (1985) y Parolari y col. (1988).



**Figura 5.11** Proyección en el plano de los atributos sensoriales en el espacio definido por los Componentes Principales 1 y 2.

La proyección de las muestras en el plano definido por los dos primeros Componentes Principales aparece en la Figura 5.12. Se observó que las muestras de la genética B se situaron en la parte positiva del Componente Principal 1, es decir, fueron muestras con mayor veteado y jugosidad que las

pertenecientes a las genéticas A y C. Además, las muestras de la genética B se encontraron menos dispersas en el plano, por tanto, se puede afirmar que esta genética proporcionó jamones más homogéneos que las otras dos genéticas en estudio.



**Figura 5.12** Proyección de las muestras de los jamones las genéticas A, B y C en el espacio definido por los Componentes Principales 1 y 2.

### 5.6.2 Correlación entre los atributos sensoriales

Para estudiar la relación entre los distintos atributos sensoriales se realizó el análisis de correlación simple de Pearson entre todas las variables.

El veteado correlacionó significativamente ( $P<0,001$ ) con la jugosidad y con la intensidad del olor a jamón curado con coeficientes de correlación de 0,799 y 0,607, respectivamente, coincidiendo con los resultados obtenidos por Ruiz (1996) en jamón ibérico. Guerrero y col. (1996) también encontraron una elevada correlación entre el veteado y la intensidad del olor a jamón curado, que puede explicarse por el efecto que producen los compuestos derivados de la lipólisis sobre el aroma.

La jugosidad correlacionó significativamente ( $P<0,05$ ) con la intensidad del olor y gusto a jamón curado con coeficientes de correlación 0,493 y 0,440, respectivamente.

Para la intensidad del olor y gusto a jamón curado se obtuvo un coeficiente de correlación 0,652 ( $P<0,001$ ).

La impresión global correlacionó significativamente con la intensidad del olor a jamón curado ( $r=0,672$ ,  $P<0,05$ ). También se encontró correlación entre la impresión global y la jugosidad ( $r=0,516$ ,  $P<0,05$ ), y entre la impresión global y la intensidad del gusto a jamón curado ( $r=0,537$ ,  $P<0,05$ ). Ruiz (1996) encontró una correlación inferior a la de este trabajo entre la intensidad del olor en jamón ibérico y la calificación final ( $r=0,454$ ,  $P<0,01$ ), también obtuvo una correlación significativa entre la calificación final y la jugosidad y el veteado. Eadie y col. (1990) encontraron correlaciones entre la aceptabilidad y el aroma y el flavor a jamón curado de distintos tipos de jamones serranos. Por tanto, el panel valoró mejor los jamones con mayor intensidad en olor, seguida de una elevada intensidad del gusto a jamón curado y mayor jugosidad, lo que coincidió con lo expuesto por Ruiz (1996) en jamón ibérico.

### **5.6.3 Correlación entre las variables sensoriales y las variables químicas o instrumentales**

Se realizó el análisis de correlación simple de Pearson entre los atributos sensoriales y las variables químicas o instrumentales.

La *intensidad del color típico del curado* correlacionó con la concentración de pigmentos totales referida a extracto seco ( $r=0,465$ ,  $P<0,05$ ). La línea genética C obtuvo una ligera mayor puntuación en intensidad del color del magro. Esta genética presentó mayor cantidad de pigmentos totales en el jamón curado y de mioglobina en los perniles frescos. La genética A presentó menor intensidad del color y menor cantidad de pigmentos totales. Apareció correlación positiva de la intensidad del color con la cantidad de nitrito residual referida a extracto seco ( $r=0,413$ ,  $P<0,05$ ).

El *veteado* correlacionó significativamente con la cantidad de grasa infiltrada analizada referida a extracto seco ( $r=0,499$ ,  $P<0,05$ ).

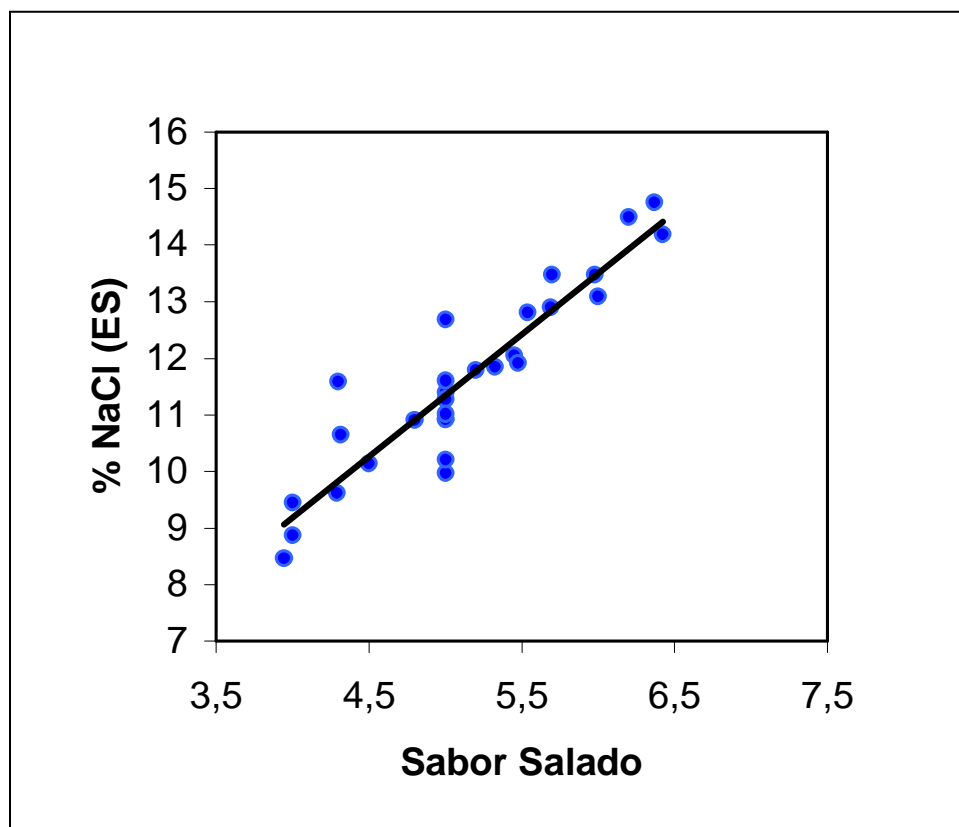
La *jugosidad* correlacionó significativamente con la cantidad de grasa infiltrada referida a extracto seco ( $r=0,718$ ,  $P<0,001$ ).

La *gomosidad* correlacionó significativamente ( $P<0,001$ ) con la fuerza de resistencia al corte, con un  $r=-0,613$ , es decir, las muestras menos gomosas (más fibrosas) presentaron mayor resistencia al corte que las más gomosas. Eadie y col. (1990) encontraron una correlación positiva entre la fuerza de resistencia al corte y la fibrosidad. La gomosidad también correlacionó con la cantidad de nitrógeno no proteico referida a extracto seco ( $r=0,404$ ,  $P<0,05$ ).

El *sabor salado* correlacionó significativamente ( $P<0,001$ ) con el %NaCl referido a extracto seco con un  $r=0,571$  y referido a extracto seco sin grasa con  $r=0,432$  ( $P<0,05$ ). También correlacionó con la humedad de forma negativa ( $r=-0,537$ ,  $P<0,01$ ). Eadie y col. (1990) encontraron correlación entre el sabor salado y el contenido en NaCl ( $r=0,73$ ,  $P<0,05$ ) y entre el sabor salado y la humedad ( $r=-0,84$ ,  $P<0,01$ ) en un estudio en jamones procedentes de cerdo blanco. Careri y col. (1993) también encontraron correlación positiva entre el sabor salado y la cantidad de NaCl, y correlación negativa respecto a la humedad. Rousset-Akrim (1996) encontró una correlación positiva entre el contenido de NaCl y el sabor salado.

Las muestras con valores de concentración de NaCl comprendidos entre 10-12% (referida a extracto seco) se correspondieron con un sabor salado adecuado según el panel de cata (Figura 5.13). Virgili y col. (1997) realizaron un estudio con consumidores, los cuales prefirieron los jamones que redujeron su contenido en NaCl desde 7% hasta 5% referido a extracto húmedo, que se corresponden, aproximadamente, con valores de 17,5 y 12,5% de NaCl referido a extracto seco, respectivamente.

La *intensidad del gusto a jamón curado* correlacionó con la humedad de forma negativa ( $r=-0,511$ ,  $P<0,01$ ).



**Figura 5.13** Regresión entre el sabor salado y la cantidad de sal referida a extracto seco.



## 5.7 CONCLUSIONES

Genética A: 75% Duroc y 25% Landrace  
Genética B: 50% Duroc, 25% Landrace y 25% Large White  
Genética C: 75% Duroc y 25% Landrace

**1.-** Los jamones mejor valorados en cuanto a impresión global (4 puntos sobre 5) son los de la genética B, que además resultan los mejor tipificados con una calidad organoléptica más homogénea.

**2.-** La impresión global se correlaciona significativamente con la intensidad del olor a jamón curado, la jugosidad y la intensidad del gusto a jamón curado, por tanto, el panel valora mejor los jamones con mayor intensidad del olor, del sabor y de jugosidad.

**3.-** Las correlaciones significativas encontradas entre las variables sensoriales y las químicas o instrumentales son: intensidad del color típico del curado con concentración de pigmentos totales y de nitrito residual; veteado y jugosidad con la cantidad de grasa infiltrada; gomosidad con la fuerza de resistencia al corte (de forma negativa) y con la cantidad de nitrógeno no proteico; sabor salado con contenido en sal y con la humedad (de forma negativa); intensidad del gusto a jamón curado con la humedad (de forma negativa).

**4.-** Una concentración de cloruro sódico comprendida entre 10-12% (referida a extracto seco) se corresponde con un sabor salado óptimo, a juicio del panel de cata entrenado en esta memoria.

**5.-** Un índice de conversión (nitroso pigmentos/pigmentos totales x 100) del 60% y una concentración de pigmentos totales próxima a 135 ppm de hematina (referida a extracto seco) se corresponde con la apreciación visual de un color adecuado del magro, según el panel de cata entrenado en este estudio.

## **CONCLUSIONES**

**1.-** Los cruces genéticos A y C, que poseen un 75% de sangre Duroc y un 25% de Landrace y proceden de dos empresas de selección genética diferentes, proporcionan jamones semejantes que varían únicamente en el espesor de la grasa de depósito y en el tamaño del jamón.

**2.-** Una variación del 25% en la cantidad de sangre Duroc, sustituida por sangre Large White, tiene el siguiente efecto:

- Da lugar a parámetros productivos, de matadero y sala de despiece más favorables desde el punto de vista económico.
- Se desarrolla una proteólisis más intensa en el jamón en el mismo tiempo de curado.
- Mejora la calidad organoléptica de los jamones, por lo que el cruce genético B (50% Duroc, 25% Landrace y 25% Large White) proporciona jamones curados más apreciados que los de las líneas genéticas A y C.

**3.-** Los parámetros indicadores de la calidad del jamón curado del cruce genético B (50% Duroc, 25% Landrace y 25% Large White) son los siguientes:

- Músculo *Semimembranosus*: % humedad,  $43,86 \pm 2,72$ ; % grasa referida a extracto seco (ES),  $12,16 \pm 3,51$ ; % proteína (ES),  $75,48 \pm 3,86$ ; % cloruro sódico (ES),  $7,31 \pm 1,40$ ; % índice de conversión (nitrosopigmentos/pigmentos totales x 100),  $56,59 \pm 5,68$ ; fuerza de resistencia al corte (kg),  $6,61 \pm 1,51$ .
- Músculo *Biceps femoris*: % humedad,  $58,60 \pm 1,98$ ; % grasa (ES),  $12,84 \pm 4,55$ ; % proteína (ES),  $69,01 \pm 3,66$ ; % cloruro sódico (ES),  $12,20 \pm 1,77$ ; % índice de conversión (nitrosopigmentos/pigmentos totales x 100),  $56,72 \pm 8,66$ ; fuerza de resistencia al corte (kg),  $9,79 \pm 1,79$ .

**4.-** La cantidad de cloruro sódico y de agente nitrificante, adicionada al pernil durante el periodo de salazón, ha de ser suficiente para alcanzar un 10-12% de cloruro sódico (referido a extracto seco) y aproximadamente un 60% de índice de conversión (nitrosopigmentos/pigmentos totales x 100) en el jamón una vez terminado el curado. No obstante, no se deben exceder estos límites a juicio de los consumidores y de la Legislación vigente en su caso.

**BIBLIOGRAFÍA**

- AICE (Asociación de Industrias de la Carne de España) (2000). Panorama del sector cárnico.
- ALOMIRAH, H.F.; ALLI, I.; GIBBS, B.F. y KONISHI, Y. (1998). Identification of proteolytic products as indicators of quality in ground and whole meat. *J. Food Quality* 21, 299-316.
- AMBANELLI, G.; MOLINARI, C.; TRASATTI, U. y PEZZANI, G. (1968). Ricerche sulla stagionatura del prosciutto di Parma. 1- Modificazioni nelle sostanze azotate. *Industria Conserve* 43, 207-210.
- ANASTASI, A.; BROWN, M.A.; KEMBHAVI, A.A.; NICKLIN, M.J.H.; SAYERS, C.A.; SUNTERS, D.C. y BARRET, A.J. (1983). Cystatin, a protein inhibitor of cysteine proteinases. Improved purification from egg white, characterisation and detection in chicken serum. *Biochem. J.* 211, 129-138.
- ANTEQUERA, T. (1990). Evolución del componente lipídico durante la maduración del jamón de cerdo ibérico. Tesis Doctoral. Universidad de Extremadura.
- ARISTOY, M.C. y TOLDRÁ, F. (1991). Deproteinization technique for HPLC amino acids analysis in fresh pork muscle and dry-cured ham. *J. Agric. Food Chem.* 39, 1792-1795.
- ARISTOY, M.C. y TOLDRÁ, F. (1995). Isolation of flavor peptides from raw pork meat and dry-cured ham. En "Food flavours. Generation. Analysis and process influence", ed. Charalambous, G. Ed. Elsevier Science. pp. 1323-1344.
- ARNAU, J. (1987a). Defectos en el jamón curado (Parte V). Otras alteraciones (Capítulo XI). En "Jamón curado: aspectos técnicos", eds. Arnau, J.; Hugas, M. y Monfort, J.M. I.R.T.A. Barcelona. España. pp. 201-207.
- ARNAU, J. (1987b). Defectos en el jamón curado (Parte V). Rancidez de los jamones curados (Capítulo IV). En "Jamón curado: aspectos técnicos", eds. Arnau, J.; Hugas, M. y Monfort, J.M. I.R.T.A. Barcelona. España. pp. 159-164.
- ARNAU, J. (1991). Aportaciones a la calidad tecnológica del jamón curado elaborado por procesos acelerados. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona.
- ARNAU, J. (1993). Tecnología de elaboración del jamón curado. *Microbiología S.E.M.* 9, 3-9.

- ARNAU, J. (1998a). Principales problemas tecnológicos en la elaboración del jamón curado. Simposio especial 44<sup>th</sup> ICoMST. Ed. I.R.T.A. y Eurocarne. Barcelona. España. pp. 72-86.
- ARNAU, J. (1998b). Tecnología de fabricación del jamón curado en distintos países. Simposio especial 44<sup>th</sup> ICoMST. Ed. I.R.T.A. y Eurocarne. Barcelona. España. pp. 9-21.
- ARNAU, J. (2000). Aspectos tecnológicos que afectan al desarrollo de la textura y del flavor. II Simposio internacional del jamón curado. Ed. I.R.T.A. y Eurocarne. Barcelona. España. pp. 27-40.
- ARNAU, J. y HUGAS, M. (1987). Defectos en el jamón curado (Parte V). Jamones ácidos y putrefactos (Capítulo I). En "Jamón curado: aspectos técnicos", eds. Arnau, J.; Hugas, M. y Monfort, J.M. I.R.T.A. Barcelona. España. pp. 133-142.
- ARNAU, J.; DÍAZ, I.; GARCÍA-REGUEIRO, J.A.; HORTÓS, M. y CASADEMONT, G. (1986). Influence of boar taint in organoleptic characteristics of Spanish cured ham. Proc. 32<sup>nd</sup> Europ. Meet. Meat Res. Workers. Ghent. Belgium. 2. pp. 311-312.
- ARNAU, J.; GUERRERO, L.; MANEJA, E.; GOU, P. (1992). Effect of pH and genetics on texture characteristics of dry cured ham. Proc. 38<sup>th</sup> ICoMST. Clermont-Ferrand. France. pp. 229-232.
- ARNAU, J.; MANEJA, E.; GUERRERO, L. y MONFORT, J.M. (1993). Phosphate crystals formation in dry-cured ham. Fleischwirtsch. 73 (8), 875-876.
- ARNAU, J.; GUERRERO, L.; CASADEMONT, G. y GOU, P. (1995). Physical and chemical changes in different zones of normal and PSE dry cured ham during processing. Food Chem. 52, 63-69.
- ARNAU, J.; GUERRERO, L. y GOU, P. (1997a). Effects of temperature during the last month of ageing and of salting time on dry-cured ham aged for six months. J. Sci. Food Agric. 74, 193-198.
- ARNAU, J.; GUERRERO, L. y GOU, P. (1997b). The precipitation of phosphates in meat products. Fleischwirtsch. 77 (10), 923-925.
- ARNAU, J.; GUERRERO, L. y SÁRRAGA, C. (1998). The effect of green ham pH and NaCl concentration on cathepsin activities and the sensory characteristics of dry-cured hams. J. Sci. Food Agric. 77, 387-392.
- ASGHAR, A. y BHATTI, R.A. (1987). Endogenous proteolytic enzymes in skeletal muscle. Their significance in muscle physiology and during *post mortem* aging events in carcasses. Adv. Food Res. 31, 343-363.

- ASTIASARÁN, I.; BERIAIN, M.J.; SÁNCHEZ-MONGE, J.M.; VILLANUEVA, R. y BELLO, J. (1988). Estudio comparativo de las características de jamones curados de cerdo blanco elaborados con distinta tecnología. *Rev. Agroquim. Tecnol. Aliment.* 28, 519-528.
- ASTIASARÁN, I.; SÁNCHEZ-MONJE, J.M.; VILLANUEVA, R. y BELLO, J. (1989). Modificaciones de la fracción nitrogenada en el jamón de cerdo blanco durante el proceso de curación. *Rev. Agroquim. Tecnol. Aliment.* 29, 16-26.
- ASTIASARÁN, I.; VILLANUEVA, R. y BELLO, J. (1990). Analysis of proteolysis and protein insolubility during the manufacture of some varieties of dry sausage. *Meat Sci.* 28, 111-117.
- ASTM (1981). Guidelines for the selection and training of sensory panel members. ASTM STP 758, Philadelphia.
- B.O.E. (27/02/84). Reglamentación técnico-sanitaria de industrias, almacenes al por mayor y envasadoras de productos y derivados cárnicos elaborados y de los establecimientos de comercio al por menor de la carne y productos elaborados.
- B.O.E. (01/06/1983). Reglamentación técnico-sanitaria para la obtención, circulación y venta de la sal y salmueras comestibles.
- BALDINI, P. y RACZYNSKI, R. (1978). The prosciutto (raw ham) of Parma and S. Danielle: changes in physico-chemical properties and microbial populations. *Proc. Int. Meet.Fd. Microb. Tech. Tabiano. Parma. Italy.* pp. 107-117.
- BAÑÓN, S. (1995). Clasificación de jamones según su calidad de carne mediante medidas instrumentales en la línea de sacrificio. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia.
- BAÑÓN, S.; GARRIDO, M.D.; PEDAUYÉ, J. y SEGUÍ, J. (1996). Clasificación de perniles frescos para la elaboración de jamón serrano. *Eurocarne* 45, 29-35.
- BARRETT, A.J. (1980). Fluorimetric assays for cathepsin B and cathepsin H with methylcoumarylamide substrates. *Biochem. J.* 187, 909-912.
- BARTON-GADE, P.A. (1987). Meat and fat quality in boards, castrates and gilts. *Livest. Prod. Sci.* 16, 187-196.
- BEJERHOLM, C. y BARTON-GADE, P. (1986). Effect of intramuscular fat level on eating quality of pig meat. *Proc. 32<sup>nd</sup> Europ. Meet. Meat Res. Workers.* Ghent. Belgium. pp. 389-391.

- BELLATI, M.; DAZZI, G.; CHIZZOLINI, R.; PALMIA, F. y PAROLARI, G. (1985). Modifications chimiques et physiques des protéines au cours de la maturation du jambon de Parme. 1- Modifications biochimiques et fonctionnelles. Viandes et Produits Carnés 6, 142-145.
- BERDAGUÉ, J.L. y GARCÍA, C. (1990). Les composants volatils du jambon sec. Viandes et Produits Carnés 11, 319-320.
- BERDAGUÉ, J.L.; DENOYER, C.; LE QUERÉ, J.L. y SEMON, E. (1991). Volatile components of dry-cured ham. J. Agric. Food Chem. 39, 1257-1261.
- BERDAGUÉ, J.L.; BONOAUD, N.; ROUSSET, S. y TOURAILLE, C. (1993). Influence of pig crossbreed on the composition, volatile compound content and flavour of dry-cured ham. Meat Sci. 34, 119-129.
- BERG, H. y KOLAR, K. (1991). Rapid Method. Evaluation of rapid moisture, fat, protein and hydroxyproline determination in beef and pork using the Infratec Food and Feed Analyzer. Fleischwirtsch. 71 (7), 787-789.
- BERGONZONI, E.; ROSI, M.A. y FABBRI, R. (1985). Stagionatura dei prosciutti in funzioni della epoca di inizio, del peso et de'll adiposita. Ann. 1<sup>st</sup> Sper. Zootec. 18, 25.
- BOADAS, C. (1997). El prensado del pernil: consecuencias tecnológicas. Trabajo de investigación del programa de doctorado en Microbiología y Bioquímica aplicadas. Universidad de Girona.
- BOND, J.S. y BUTLER, P.E. (1987). Intracellular proteases. Ann. Rev. Biochem. 56, 333-364.
- BRANDT, M.A.; SKINNER, E.Z. y COLEMAN, J.A. (1963). Texture profile method. J. Food Sci. 28, 404-409.
- BUSCAILHON, S. y MONIN, G. (1994). Déterminisme des qualités sensorielles du jambon sec. 1<sup>ère</sup> Partie. Viandes et Produits Carnés 15, 23-34.
- BUSCAILHON, S.; BERDAGUÉ, J.L. y MONIN, G. (1993). Time-related changes in volatile compounds of lean tissue during processing of french dry-cured ham. J. Sci. Food Agric. 63, 69-75.
- BUSCAILHON, S.; BERDAGUÉ, J.L.; ROUSSET, J.; CORNET, M.; GANDEMER, G.; TOURAILLE, C. y MONIN, G. (1994a). Relations between compositional traits and sensory qualities of French dry-cured ham. Meat Sci. 37, 229-243.
- BUSCAILHON, S.; GANDEMER, G. y MONIN, G. (1994b). Timed-related changes in intramuscular lipids of French dry-cured ham. Meat Sci. 37, 245-255.

- BUSCAILHON, S.; TOURAILLE, C.; GIRARD, J.P. y MONIN, G. (1995). Relationship between muscle tissue characteristics and sensory qualities of dry-cured ham. *J. Muscle Foods* 6, 9-22.
- BUTS, B.; CLAEYS, E. y DEMEYER, D. (1986). Relation between concentration of troponin-T, 30.000 dalton and titin on SDS-PAGE and tenderness of bull *Longissimus dorsi*. Proc. 32<sup>nd</sup> Europ. Meet. Meat Res. Workers. Ghent. Belgium. p. 175.
- CALKINS, C.R. y SEIDEMAN, S.C. (1988). Relationship among calcium-dependent protease, cathepsin B and H, and meat tenderness and the response of muscle to aging. *J. Anim. Sci.* 66, 1186-1193.
- CAMERON, N.D.; WARRIS, P.D.; PORTER, S.J. y ENSER, M.B. (1990). Comparison of Duroc and British Landrace pigs for meat and eating quality. *Meat Sci.* 27, 227-232.
- CAMO A/S (1994). The Unscrambler User's Guide, versión 5.5. Trondheim. Norway.
- CANTONI, C.; BIANCHI, M.A.; BERETTA, G. y CATTANEO, P. (1972). Ricerche sulle variazioni dei peptidi durante la maturazione del prosciutto crudo. *Industrie Alimentari* 11, 98-102.
- CARERI, M.; MANGIA, A.; BARBIERI, G.; BOLZONI, L.; VIRGILI, R. y PAROLARI, G. (1993). Sensory property relationships to chemical data of italian-type dry-cured ham. *J. Food Sci.* 5, 968-972.
- CARRASCOSA, A.V. y CORNEJO, I. (1991). Characterization of *Micrococcaceae* strains selected as potential starter cultures to Spanish dry-cured ham processes. II. Slow process. *Fleischwirtsch.* 71 (10), 1187-1188.
- CARRASCOSA, A.V.; MARÍN, M.E.; AVENDAÑO, M.C. y CORNEJO, I. (1988). Cambios microbiológicos y físico-químicos durante el curado rápido de jamón serrano. *Alimentaria* 194, 9-12.
- CASSENS, R.G.; GREASER, N.L.; ITO, T. y LEE, M. (1979). Reactions of nitrite in meat. *Food Technol.* 33, 46-57.
- CHADWICK, J.P. y KEMPSTER, A.J. (1983). A repeat national survey (ten years old) of muscle pH values in commercial bacon carcasses. *Meat Sci.* 9, 101-111.
- CHASCO, J.; LIZASO, G. y BERIAIN, M.J. (1996). Cured Colour Development during sausage processing. *Meat Sci.* 44, 203-211.
- CHIZZOLINI, R.; DELBONO, G.; NOVELLI, E.; PONGOLINI, S. y ROSA, P. (1993a). Objective measurements of pork quality. Evaluation of various techniques. *Meat Sci.* 34, 49-77.



- CHIZZOLINI, R.; ROSA, P. y NOVELLI, E. (1993b). Biochemical and microbiological events of Parma ham production technology. *Microbiologia S.E.M.* 9, 26-34.
- CHIZZOLINI, R.; NOVELLI, E.; CAMPANINI, G.; DAZZI, G.; MADARENA, G.; ZANARDI, E.; PACCHIOLI, M.T. y ROSSI, A. (1996). Lean colour of green and matured Parma hams: comparative evaluation and technological relevance of sensory and objective data. *Meat Sci.* 44, 159-172.
- CIVILLE, G.V. y SZCZESNIAK, A.S. (1973). Guidelines to training a texture profile panel. *J. Texture Stud.* 4, 204-223.
- CIVILLE, G.V. y LISKA, I.H. (1975). Modifications and applications to foods of the General Foods sensory texture profile technique. *J. Texture Stud.* 6, 19-31.
- CLAEYS, E.; UYTTERHAEGEN, L.; BUTS, B. y DEMEYER, D. (1995). Quantification of beef myofibrillar proteins by SDS-PAGE. *Meat Sci.* 39, 177-193.
- COHEN, S.H. y TRUSAL, L.R. (1980). The effect of catheptic enzymes on chilled bovine muscle. *Scanning Electron Microsc.* 3, 595.
- CÓRDOBA, J.J. (1990). Transformaciones de los componentes nitrogenados durante la maduración del jamón de cerdo ibérico. Tesis doctoral. Universidad de Extremadura.
- CÓRDOBA, J.J.; ANTEQUERA, T.; VENTANAS, J.; LÓPEZ-BOTE, C.; GARCÍA, C. y ASENSIO, M.A. (1994). Hydrolysis and loss of extractability of proteins during ripening of iberian ham. *Meat Sci.* 37, 217-227.
- CORNEJO, I.; CARRASCOSA, A.V.; MARIN, M.E. y AVENDAÑO, M.C. (1988). Influencia del salado, el lavado y el reposo sobre la flora superficial del jamón curado. *Cárnica* 2000 58, 34-35.
- CROSS, C.K. y ZIEGLER, P. (1965). A comparison of the volatile fractions from cured and uncured meat. *J. Food Sci.* 30, 610-614.
- CROSS, H.R. (1994). Características organolépticas de la carne. Factores sensoriales y evaluación. En "Ciencia de la carne y de los productos cárnicos", eds. Price, J.F. y Schweigert, B.S. Ed. Acribia S.A. Zaragoza. España. pp. 279-397.
- DE PRADO, C. (1988). Maduración del jamón de cerdo ibérico (Jabugo): fenómenos proteolíticos. Tesis doctoral. Universidad de León.
- DE VOL, D.L.; McKEITH, F.K.; BECHTEL, P.J.; NOVAKOFSKI, J.; SHANKS, R.D. y CARR, T.R. (1988). Variation in composition and palatability traits and relationships between muscle characteristics and palatability in random sample of pork carcasses. *J. Anim. Sci.* 66, 385-395.

DIARIO OFICIAL DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS 13/11/1999. Reglamento nº 2419/1999 de la Comisión del 12 de noviembre de 1999. L291/25-26.

DÍAZ, I. (1993). Modificaciones de la composición lipídica durante los procesos tecnológicos del jamón curado. Tesis Doctoral. Universidad autónoma de Barcelona.

DÍAZ, I.; ARNAU, J. y GARCÍA-REGUEIRO, J.A. (1987). Defectos en el jamón curado (Parte V). Sabor a cordero (Capítulo V). En "Jamón curado: aspectos técnicos", eds. Arnau, J.; Hugas, M. y Monfort, J.M. I.R.T.A. Barcelona. España. pp 165-169.

DIESTRE, A. (1993). Influencia del periodo *ante mortem* sobre la mortalidad, el bienestar animal y la calidad en la producción porcina. Porci 13, 11-16.

DRANSFIELD, E. (1993). Modelling *post mortem* tenderisation IV: Role of calpains and calpastatin in conditioning. Meat Sci. 34, 217-234.

DRANSFIELD, E. (1994). Tenderness of meat, poultry and fish. En "Quality attributes and their measurement in meat, poultry and fish", eds. Pearson, A.M. y Dutson, T.R. Ed. Blackie Academic & Professional. London. England. pp. 289-315.

EADIE, L.M.; JONES, P.N. y HARRIS, P.V. (1990). Texture of ham. Food Research Quarterly 3, 72-81.

EDWARDS, S.A.; WOOD, J.D.; MONCRIEFF, C.B. y PORTER, S.A. (1992). Composition of the Duroc and Large White as terminal sire breeds and their effect on pig meat quality. Anim. Prod. 54, 289-297.

Especialidad Tradicional Garantizada (1999). Pliego de condiciones de la E.T.G. "Jamón Serrano". Eurocarne 81, 32-35.

ETHERINGTON, D.J. (1984). The contribution of proteolytic enzymes to *post mortem* changes in muscle. J. Anim. Sci. 59, 1644-1650.

ETHERINGTON, D.J. (1987). Conditioning of meat factors influencing protease activity. En "Accelerated processing of meat", eds. Romita, A.; Valin, C. y Taylor, A.A. Ed. Elsevier Applied Sci. London. England. pp 21-28.

ETHERINGTON, D.J.; TAYLOR, M.A.J. y DRANSFIELD, E. (1987). Conditioning of meat from different species. Relationship between tenderising and the levels of cathepsin B, cathepsin L, calpain I, calpain II and  $\beta$ -glucuronidase. Meat Sci. 20, 1-18.

FLEMING, H.P.; BLUMER, T.N. y CRAIG, H.B. (1960). Quantitative estimations of myoglobin and hemoglobin in beef muscle extracts. J. Anim. Sci. 19, 1164-1171.

- FLORES, J.; BERMELL, S.; NIETO, P. y COSTELL, E. (1984). Cambios químicos en las proteínas del jamón durante los procesos de curado lento y rápido, y su relación con la calidad. *Rev. Agroquim. Tecnol. Aliment.* 24, 503-509.
- FLORES, J.; BERMELL, S. y NIETO, P. (1985a). Evaluación de la calidad de los productos cárnicos. III. Jamón curado. *Rev. Agroquim. Tecnol. Aliment.* 25, 400-408.
- FLORES, J.; NIETO, P.; BERMELL, S.; y MILLARES, M.C. (1985b). Cambios en los lípidos del jamón durante el proceso de curado lento y rápido, y su relación con la calidad. *Rev. Agroquim. Tecnol. Aliment.* 25, 117-124.
- FLORES, M.; ROMERO, J.; ARISTOY, M.C.; FLORES, J. y TOLDRÁ, F. (1994). Differences in muscle proteolytic activities among pork breed types. *Sci. des Aliments* 14, 469-474.
- FLORES, M.; GRIMM, C.C.; TOLDRÁ, F. y SPANIER, A.M. (1997). Correlations of sensory and volatile compounds of Spanish Serrano dry-cured ham as a function of two processing times. *J. Agric. Food Chem.* 45, 2178-2186.
- FORMAKER, B.K. y HILL, D.L. (1988). An analysis of residual NaCl taste response after amiloride. *Am. J. Physiol.* 255, R1002.
- FOX, J.B.Jr. (1994). Los pigmentos de la carne. En "Ciencia de la carne y de los productos cárnicos" (2ª edición), eds. Price, J.F. y Schweigert, B.S. Ed. Acribia, S.A. Zaragoza. España. pp. 175-198.
- FRITZ, J.D. y GREASER, M.L. (1991). Changes in titin and nebulin in *post mortem* bovine muscle revealed by gel electrophoresis, western blotting and immunofluorescence microscopy. *J. Food Sci.* 56, 607-610 y 615.
- FROYSTEIN, T. (1981). Meat quality of commercial pig carcass and stress susceptibility in the Norwegian pig population. *Proc. of porcine stress and meat quality carcasses and possible solutions to the problems.* Eds. Froystein, E.; Slinde, E. y Standal, N. pp. 90-92.
- GARCÍA, C.; BERDAGUÉ, J.; ANTEQUERA, T.; LÓPEZ-BOTE, C.; CÓRDOBA, J.J. y VENTANAS, J. (1991). Volatile components of dry-cured iberian ham. *Food Chem.* 41, 23-32.
- GARCÍA, C.; RUIZ, J. y VENTANAS, J. (1995). Evaluación de la calidad sensorial del jamón ibérico. *Frontera*, 32-39.
- GARCÍA, C.; VENTANAS, J.; ANTEQUERA, T.; RUIZ, J.; CAVA, R. y ÁLVAREZ, P. (1996). Measuring sensorial quality of iberian ham by Rash model. *J. Food Quality* 19, 397-412.
- GARCÍA, M.D. (1992). Estudio de la calidad de la canal y de la carne de los cerdos producidos en Castilla y León. Tesis Doctoral. Universidad de León.

- GARCÍA-MACÍAS, J.A.; GISPERT, M.; OLIVER, M.A.; DIESTRE, A.; ALONSO, P.; MUÑOZ-LUNA, A.; SIGGENS, K. y CUTHBERT-HEAVENS, D. (1996). The effect of cross, slaughter weight and halothane genotype on leanness and meat and fat quality in pigs carcasses. *Anim. Sci.* 63, 487-496.
- GARCÍA RUIZ, A.; NUÑEZ, M.D. y CABEZUDO, M.D. (2001). Evaluation of enzymatic activities of microorganism isolated from Spanish dry-cured ham during the commercial shelf life. *Sci. des Aliments*. (En prensa).
- GARRIDO, M.D.; BAÑÓN, S.; PEDAUYE, J. y LAENCINA, J. (1994). Objective meat quality measurements of ham: a practical classification method on the slaughterline. *Meat Sci.* 37, 421-428.
- GEIR, K.T.; KRYVI, H. y SLINDE, E. (1988). Composition of muscle fibre types and connective tissue in bovine *M. semitendinosus* and its relation to tenderness. *Meat Sci.* 23, 303.
- GIL, M. (1996). Tenderización o maduración de la carne. *Eurocarne* 43,77-83.
- GIL, M.; HORTÓS, M. y SÁRRAGA, C. (1998). Calpain and cathepsin activities, and protein extractability during ageing of *longissimus* porcine muscle from normal and PSE meat. *Food Chem.* 63, 385-390.
- GIOLITTI, G.; CANTONI, C.; BIANCHI, M. y RENON, P. (1971a). Microbiology and chemical changes in raw hams of italian type. *J. Appl. Bacteriol.* 34, 51-61.
- GIOLITTI, G.; CANTONI, C.; BIANCHI, M.; RENON, P. y BERETTA, G. (1971b). Micobiologia e cambiamenti biochimici nei prosciutti crudi durante la stagionatura. *Arch. Veter. Ital.* 22, 61-86.
- GOLL, D.E.; OTSUKA, Y.; NAGAINIS, P.A.; SHANNON, J.D.; SATHE, S.K. y MUGURAMA, M. (1983). Role of muscle proteinases in maintenance of muscle integrity and mass. *J. Food Biochem.* 7, 137-177.
- GORNALL, A.G.; BARDAWILL, C.J. y DAVID, M.M. (1949). Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.* 177, 751-766.
- GOROSPE, O.; SÁNCHEZ-MONGE, J.M. y BELLO, J. (1986). Eliminación de interferencias en el estudio químico del color de productos cárnicos comerciales, provocadas por las sustancias colorantes presentes. *Alimentaria* 9, 25-32.
- GOU, P.; GUERRERO, L. y ARNAU, J. (1995). Sex and crossbreed effects on the characteristics of dry-cured ham. *Meat Sci.* 40, 21-31.
- GOU, P.; MULET, A.; COMAPOSADA, J.; BENEDITO, J. y ARNAU, J. (1996). Water diffusion in dry cured ham. *Proc. 10<sup>th</sup> Int. Drying Symposium*

- (IDS'96), vol B. Krakow. Poland. pp. 778-784.
- GOU, P.; ARNAU, J. y GUÀRDIA, M.D. (2000). Efecto del tipo de pulido (con corteza o corte en V) en algunas características sensoriales del jamón curado. II Simposio internacional del jamón curado. Ed. I.R.T.A. y Eurocarne. Barcelona. España. pp. 100-101.
- GUERRERO, L. (1993). Cómo se implementa un panel test. Irtacarne 12, 6-7.
- GUERRERO, L. (1994). Servicios de análisis sensorial. Eurocarne 30, 73-77.
- GUERRERO, L. (1995). Selección de catadores: porqué y cómo. 1<sup>er</sup> Simposi de l'olivera arbequina a Catalunya. Les Borges Blanques. Lleida. España. pp. 141-144.
- GUERRERO, L.; ARNAU, J. y GARRIGA, M. (1992). El control de la calidad de la materia prima: un sistema para reducir las bajas en el jamón curado. Eurocarne 4, 37-40.
- GUERRERO, L.; GOU, P.; ALONSO, P. y ARNAU, J. (1996). Study of the physicochemical and sensorial characteristics of dry-cured hams in three pig genetic types. J. Sci. Food Agric. 70, 526-530.
- GUERRERO, L.; GUÀRDIA, M.D. y ARNAU, J. (1998). El análisis sensorial en jamón curado. Eurocarne 67, 51-58.
- GUERRERO, L.; GOU, P. y ARNAU, J. (1999). The influence of meat pH on mechanical and sensory textural properties of dry-cured ham. Meat Sci. 52, 267-273.
- HAMM, R. (1960). Biochemistry of meat hydration. Adv. Food Res. 10, 355-362.
- HAMMOND, J. (1955). J. Yorkshire Agric. Soc. 1.
- HAN, D.; McMILLIN, K.W. y GODBER, J.S. (1994). Hemoglobin, myoglobin, and total pigments in beef and chicken muscles: chromatographic determination. J. Food Sci. 59, 1279-1282.
- HANSON, K.E.; LUNDSTRÖM, K.; FJELKNER-MODIG, S. y PEARSON, J. (1980). The importance of androstenone and skatol for boar taint. Swedish J. Agric. Res. 10, 167-173.
- HAY, J.D.; CURRIE, R.W. y WOLFE, F.H. (1973). Effect of *post mortem* aging on chicken muscle fibrils. J. Food Sci. 38, 981-986.
- HELANDER, E. (1957). On quantitative, muscle protein determination. Acta Physiol. Scandinavica 41, Supplement 141.

- HINRICHSEN, L.I. y PEDERSEN, S.B. (1995). Relationship among flavor, volatile compounds, chemical changes, and microflora in Italian-type dry-cured ham during processing. *J. Agric. Food Chem.* 43, 2932-2940.
- HOFMANN, K. (1977). Die Wasserbindung des Fleisches und ihre Messung. *Die Fleischwirtsch.* 4, 727-731.
- HORNSEY, H.C. (1956). The colour of cooked cured pork. I. Estimation of the nitric oxide-haem pigments. *J. Sci. Food Agric.* 7, 534-540.
- HORTÓS, M. (1995). Influencia de la maduración y de las condiciones del proceso tecnológico en los cambios de las fracciones nitrogenadas del jamón curado. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona.
- HORTÓS, M.; GIL, M. y SÁRRAGA, C. (1994). Effect of calpain and cathepsin activities on myofibrils from porcine *longissimus* muscle during conditioning of normal and exudative meat. *Sci. des Aliments* 14, 503-515.
- HOVENIER, R.; KANIS, E.; VAN ASSELDONK, T. y WESTERINK, N.G. (1993). Breeding for pig meat quality in halothane negative populations-a review. *Pig News and Information* 14, 17N-25N.
- HUERTA, T. (1986). Aspectos fisico-químicos y microbiológicos del jamón salado por vía seca. Tesis Doctoral. Universidad de Valencia.
- HUGAS, M. y ARNAU, J. (1987). Defectos en el jamón curado (Parte V). Jamón con coquera (Capítulo VIII). En "Jamón curado: aspectos técnicos", eds. Arnau, J.; Hugas, M. y Monfort, J.M. I.R.T.A. Barcelona. España. pp. 183-188.
- HUGAS, M.; ARNAU, J. y ROCA, M. (1987). El jamón curado (Parte I). Estudio de la evolución microbiana y de los parámetros fisico-químicos en el jamón curado, influencia de varios conservadores comerciales en la flora microbiana y en los parámetros fisico-químicos (Capítulo I). En "Jamón curado: aspectos técnicos", eds. Arnau, J., Hugas, M. y Monfort, J.M. I.R.T.A. Barcelona. España. pp. 15-46.
- ISAKSSON, T.; MILLER, C.E. y NAES, T. (1992). Non-destructive NIR and NIT. Determination of protein, fat and water in plastic-wrapped, homogenized meat. *Applied Spectroscopy* 46, 1685-1694.
- ISO METHOD 1442 (1973). International Standards Organization. Geneva. Switzerland.
- ISO METHOD 1443 (1973). Determination of fat. International Standards Organization. Geneva. Switzerland.
- IVERSEN, P.N. (1995). The calpain/calpastatin system with special reference to *post mortem* degradation of myofibrillar proteins in porcine M. *longissimus*



- dorsi. Ph. D. Thesis. The Royal Veterinary and Agricultural University of Copenhagen.
- JEFFERY, G.H.; BASSETT, J.; MENDHAN, J. y DENNEY, R.C. (1989). Titrimetric Analysis (Capítulo 10). En "Vogel's textbook of quantitative chemical analysis" 5 edition. Ed. Longman Scientific & Technical. New York. U.S.A.
- JEREMIAH, L.E. (1988). A comparison of flavor and texture profiles for lamb leg roasts from three different geographical sources. *Can. Inst. Food Sci. Technol.* 21, 471-476.
- JEREMIAH, L.E.; MURRAY, A.C. y GIBSON, L.L. (1990). The effects of differences in inherent muscle quality and frozen storage on the flavor and texture profile of pork loin roast. *Meat Sci.* 27, 305-327.
- JÓCILES, A.; HERRERO, H. y LARRIBA, G. (1983). Evolución de la flora microbiana durante la maduración del jamón ibérico (Carcesa). IX Cong. Nac. Microbiol. (S.E.M.). Vol. I. Tomo 2, nº 469.
- JOHNSON, M.H.; CALKINS, C.R.; HUFFMAN, R.D.; JOHNSON, D.D. y HARGROVE, D.D. (1990). Differences in cathepsin B+L and calcium-dependent protease activities among breed type and their relationship to beef tenderness. *J. Anim. Sci.* 68, 2371-2379.
- KALLWEIT, E. (1981). The present situation in the Federal Republic of Germany: meat quality and stress susceptibility in breeding stock. *Proc. of porcine stress and meat quality: causes and possible solutions to the problems.* Eds. Froystein, T.; Slinde, E. y Standal, N. pp. 75-89.
- KANNER, J. (1979). S-nitrosocysteine (RSNO), an effective antioxidant in cured meat. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 56, 74-76.
- KATO, H.; RHUE, M.R. y NISHIMURA, T. (1988). Role of free amino acids and peptides in food taste. En "Flavor chemistry", eds. Teranishi, R.; Buttery, R.R.G. y Shahidi, F. ACS Symposium Series 388. American Chemical Society. Washington D.C. U.S.A. pp. 158-175.
- KEMP, J.D.; GAMMON, D.L.; MOODY, E.G. y JACOBS, J.A. (1968). Effect of fresh ham quality on aged ham quality. *J. Anim. Sci.* 27, 367-369.
- KEMP, J.D.; FOX, J.D. y MOODY, W.G. (1974). Cured ham properties as affected by nitrate y nitrite and fresh pork quality. *J. Food Sci.* 39, 972-976.
- KEMPSTER, A.J.; DILWORTH, A.W.; EVANS, D.G. y FISHER, K.D. (1986). The effects of fat thickness and sex on pig meat quality with special reference to the problems associated with overleanness. 1. Butcher and consumer panel results. *Anim. Prod.* 43, 517-533.
- KERESSE, I. (1984). "Methods of protein analysis". Ed. Ellis Horwood. Chichester. England.

- KLEMENT, J.T.; CASSENS, R.G. y FENNEMA, O.R. (1973). The association of protein solubility with physical properties in a fermented sausage. *J. Food Sci.* 38, 1128-1131.
- KNIGHT, P. y PEARSON, N. (1988). Action of NaCl and polyphosphates in meat processing: responses of myofibrils to concentrated salt solutions. *Meat Sci.* 24, 275-300.
- KOHATA, H.; NUMATA, M.; KAWAGUCHI, M.; NAKAMURA, T. y ARAKAWA, N. (1992). The effect of salt composition on taste development in prosciutto. *Proc. 38<sup>th</sup> ICoMST. Clermont-Ferrand. France.* pp. 1271-1274.
- KOOHMARAIE, M. (1988). The role of endogenous proteases in meat tenderness. *Proc. 41<sup>st</sup> Ann. Rec. Meat Conf. Wyoming. U.S.A.* pp. 89-100.
- KOOHMARAIE, M. (1992). The role of  $\text{Ca}^{2+}$  dependent proteases (calpains) in *post mortem* proteolysis and meat tenderness. *Biochimie* 74, 239-243.
- KOOHMARAIE, M. y KRETCHMAR, D.H. (1990). Comparisons of four methods for quantification of lysosomal cysteine proteinase activities. *J. Anim. Sci.* 68, 2362-2370.
- KOOHMARAIE, M.; SCHOLLMEYER, J.E. y DUTSON, T.R. (1986). Effect of low-calcium requiring calcium-activated factor on myofibrils under varying pH and temperature conditions. *J. Food Sci.* 51, 28-32, 65.
- KOOHMARAIE, M.; BABIKER, A.S.; MERKEL, R.A. y DUTSON, T.R. (1988). Role of  $\text{Ca}^{2+}$  dependent protease and lysosomal enzymes in *post mortem* changes in bovine skeletal muscle. *J. Food Sci.* 53, 1253-1257.
- KOOHMARAIE, K.; WHIPPLE, G.; KRETCHMAR, D.H.; CROUSE, J.D. y MERSMANN, H.J. (1991). *Post mortem* proteolysis in *longissimus* muscle from beef, lamb and pork carcasses. *J. Anim. Sci.* 69, 617-624.
- LANZA, E. (1983). Determination of moisture, protein, fat and calories in raw pork and beef by near infrared spectroscopy. *J. Food Sci.* 40, 471-474.
- LAWRIE, R.A. (1998). The eating quality of meat. En "Lawrie's Meat Science". Ed. Woodhead Publishing Ltd. Cambridge. England. pp. 212-254.
- LEISTNER, L. (1985). Allgemeines über Rohwurst und Rohschinken. En "Mikrobiologie und Qualität von Rohwurst und Röhshinken. Bundesanstalt für Fleischforschung". Kulmbach. Germany. pp. 1-29.
- LEÓN CRESPO, F.; MONTERO, E.; BELTRÁN, F.; PENEDO, J.C.; LÓPEZ, A.; MATA, C.; BARRANCO, A. y SANCHEZ, A. (1983). Composición química del jamón serrano comercial. *Alimentaria* 148, 23-26.
- LEÓN CRESPO, F.; MONTERO, E.; BELTRÁN, F.; PENEDO, J.C.; LÓPEZ, A.;



- MATA, C. y BARRANCO, A. (1984). Características de estabilidad y seguridad sanitaria del jamón serrano comercial. *Alimentaria* 149, 35-37.
- LEÓN CRESPO, F.; MARTÍN, C.; PENEDO, J.C.; BARRANCO, A.; MATA, C. y BELTRÁN DE HEREDIA, F. (1986). Diferencias en la composición química de ocho regiones anatómicas del jamón serrano ibérico. *Alimentaria* 177, 23.
- LEÓN CRESPO, F.; VELLOSO, C.; CAMARGO, S.; JORQUERA, M.B.; MARTINEZ, I.; MATA, C.; MORENO, R.; NAVARRO, B.; PENEDO, J.C. y DE TORRES, J.M. (1987). Bases para evitar la alteración profunda o "cala" del jamón ibérico. *Cárnica* 2000 48, 33-43.
- LÓPEZ, M.O.; DE LA HOZ, L.; CAMBERO, M.I.; REGLERO, G. y ORDÓÑEZ, J.A. (1992). Volatile compounds of dry hams from iberian pigs. *Meat Sci.* 30, 267-277.
- LÓPEZ-BOTE, C. (1992). Calidad de la carne. En "Manual práctico de la carne". Ed. Martín y Macías. Madrid. España. pp. 143-180.
- LÜKE, F.K. (1986). Microbiological processes in the manufacture of dry sausages and raw hams. *Fleischwirtsch.* 66, 1505-1509.
- LUNDSTRÖM, K.; HANSSON, K.E.; FJELKNER-MODIG, S. y PERSSON, J. (1980). Skatole: another contributor to boar taint. *Proc. 26<sup>th</sup> Europ. Meet. Meat Res. Workers*, F-13.
- LUSBY, M.L.; RIDPATH, J.F.; PARRISH, F.C. Jr. y ROBSON, R.M. (1983). Effect of *post mortem* storage on degradation of the myofibrillar protein titin in bovine *longissimus* muscle. *J. Food Sci.* 48, 1787-1790.
- LYON, B.G. y LYON, G.E. (1990). Texture profile of broiler pectoralis major as influenced by *post mortem* deboning time and heat method. *Poultry Sci.* 69, 329-340.
- MacBRIDE, M.A. y PARRISH, F.C.Jr. (1977). The 30.000-dalton component of tender bovine *longissimus* muscle. *J. Food Sci.* 42, 1627.
- MacLEOD, G. (1986). The scientific and technological basis of meat flavours. En "Developments in Food Flavours", eds. Birch, G.G. y Lindley, M.G. Elsevier. London. pp. 191-223.
- MAGA, J.A. (1994). Umami flavor of meat. En "Flavor of meat and meat products", ed. Shahidi, F. Ed. Blackie Academic & Professional. London. England. pp. 98-115.
- MARSH, B.B.; LOCKNER, J.V.; TAKAHASHI, G. y KRAGNESS, D.D. (1981). Effects of early *post mortem* pH and temperature on beef tenderness. *Meat Sci.* 5, 479-483.

- MARTENS, H. y NAES, T. (1989). "Multivariate Calibration". Ed. John Wiley & Sons. Chichester. England.
- MARTÍN, L. (1996). Influencia de las condiciones del procesado sobre los cambios madurativos en el jamón ibérico. Tesis Doctoral. Universidad de Extremadura.
- McCORMICK, R.J.; REECK, G.R. y KROPF, D.H. (1988). Separation and identification of porcine sarcoplasmic proteins by reversed-phase high-performance liquid chromatography and polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Agric. Food Chem.* 36, 1193-1196.
- McGLOUGHLIN, P.; ALLEN, P.; TARRANT, P.V. y JOSEPH, R.L. (1988). Growth and carcass quality of crossbred pigs sired by Duroc, Landrace and Large White boars. *Livest. Prod. Sci.* 18, 275-288.
- MEAT and LIVESTOCK COMMISSION (1992). Stotfold pig development unit. Second trial results. Manuscript 31 p.
- MELO, T.S.; BLUMER, T.N.; SWAISGOOD, H.E. y MONROE, R.J. (1974). Catheptic enzyme activity in aged country-style hams as influenced by pre-curing treatment. *J. Food Sci.* 39, 511-515.
- MIKAMI, M.; WHITING, A.H.; TAYLOR, M.A.J.; MACIEWICZ, R.A. y ETHERINGTON, D.J. (1987). Degradation of myofibrils from rabbit, chicken and beef by cathepsin L and lysosomal lysates. *Meat Sci.* 21, 81-87.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA PESCA Y ALIMENTACIÓN (1994). "Métodos Oficiales de Análisis" (Tomo IV). Ed. Secretaria General Técnica del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.
- MÖHLER, K. (1980). Das Pökein Verlag Rheinhessische Druckwerkstätte. Alzey.
- MOLINA, I. y TOLDRÁ, F. (1992). Detection of proteolytic activity in microorganisms isolated from dry-cured ham. *J. Food Sci.* 57, 1308-1310.
- MOLINA, I.; NIETO, P.; FLORES, J.; SILLA, H. y BERMELL, S. (1991). Study of the microbial flora of dry-cured ham. V. Lipolytic activity. *Fleischwirtsch.* 71 (8), 906-908.
- MOLTIVA, M.J.; TOLDRÁ, F. y FLORES, J. (1992). Assay of lipase and esterase activities in fresh pork meat and dry-cured ham. *Z. Lebensm. Unters Forsch.* 195, 446-450.
- MOLTIVA, M.J.; TOLDRÁ, F.; NIETO, P. y FLORES, J. (1993). Muscle lipolysis phenomena in the processing of dry-cured ham. *Food Chem.* 48, 121-125.

- MONIN, G. y OUALI, A. (1991). Muscle differentiation and meat quality. En "Developments in meat science" 5 edition, ed. Lawrie, R.A. Ed. Elsevier Applied Sci. London. England. pp. 89-157.
- MONIN, G.; SELLIER, P.; OLLIVIER, L.; GOUTEFONGEA, R. y GIRARD, J. P. (1981). Carcass characteristics and meat quality of halotane negative and halotane positive Pietrain pigs. Meat Sci. 5, 413-418.
- MONIN, G.; MARINOVA, P.; TALMANT, A.; MARTIN, J.F.; CORNET, M.; LANORE, D. y GRASSO, F. (1997). Chemical and structural changes in dry-cured hams (Bayonne hams) during processing and effects of the dehairing technique. Meat Sci. 47, 29-47.
- MORTERSEN, A.B.; BEJERHOLM, C. y PEDERSEN, J.K. (1986). Consumer test of meat from entire males, in relation to skatole in backfat. Proc. 32<sup>nd</sup> Europ. Meet. Meat Res. Workers. Ghent. Belgium. pp. 23-26.
- MUÑOZ, A.M.; CIVILLE, G.V. y CARR, B.T. (1992). Sensory Evaluation in Quality Control. Van Nostrand Reinhold. New York. U.S.A.
- NAGAINIS, P. y WOLFE, F.H. (1982). Calcium activated neutral proteases hydrolyzes Z-disc actin. J. Food Sci. 47, 1358-1364.
- NEGISHI, H.; YAMAMOTO, E. y KUWATA, T. (1996). The origin of the 30 kDa component appearing during *post mortem* ageing of bovine muscle. Meat Sci. 42, 289-303.
- NICOD, H. (1990). L'organisation pratique de la mesure sensorielle. La formation du groupe. En: "Evaluation sensorielle. Manuel méthodologique". SSHA et ISHA. Ed. Technique et Documentation Lavoisier. p. 327.
- NICOLAU, J. (1985). El jamón curado de cerdo blanco. Cárnica 2000 18, 86-91.
- NÚÑEZ, F. (1995). Flora fúngica en jamón ibérico y su importancia tecnológica y sanitaria. Tesis Doctoral. Universidad de Extremadura.
- NUTE, G.R.; JONES, R.C.D.; DRANSFIELD, E. y WHELEHAN, O.P. (1987). Sensory characteristics of ham and their relationships with composition, visco-elasticity and strength. Int. J. Food Sci. Technol. 22, 461-476.
- OFFER, G. y TRINICK, J. (1983). On the mechanism of water holding in meat: the swelling and shrinking of the myofibrils. Meat Sci. 8, 245-281.
- OKITANI, A.; NISHIMURA, T. y KATO, H. (1981). Characterization of hydrolase H, a new muscle protease possessing aminoendopeptidase activity. Eur. J. Biochem. 115, 269-274.

- OLIVER, M.A (1991). Efectos de la raza y de la sensibilidad al halotano en la calidad de la canal y de la carne de cerdo. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona.
- OLIVER, M.A.; GISPERT, M. y DIESTRE, A. (1988). Estudio de los músculos *Longissimus dorsi* y *Semimembranosus* en canales porcinos comerciales. Medicina Veterinaria 5 (1), 45-49.
- OLIVER, M.A.; GISPERT, M.; TIBAU, J. y DIESTRE, A. (1991). The measurement of light scattering and electrical conductivity for the prediction of PSE pig meat at various times *post mortem*. Meat Sci. 29, 141-151.
- OLIVER, M.A.; GISPERT, M. y DIESTRE, A. (1993). The effects of breed and halothane sensitivity on pig meat quality. Meat Sci. 35, 105-118.
- OLIVER, M.A.; GOU, P.; GISPERT, M.; DIESTRE, A.; ARNAU, J.; NOGUERA, J.L. y BLASCO, A. (1994). Comparison of five types of pig crosses. II. Fresh meat quality and sensory characteristics of dry cured ham. Livest. Prod. Sci. 40, 179-185.
- OLSON, D.G. y PARRISH, F.C.Jr (1977). Relationships of myofibril fragmentation index to measures of beef steak tenderness. J. Food Sci. 42, 506.
- OLSON, D.G.; PARRISH, F.C.Jr.; DAYTON, W.R. y GOLL, D.E. (1977). Effect of *post mortem* storage and calcium activated factor on the myofibrillar proteins of bovine skeletal muscle J. Food Sci. 42, 117.
- ORDEN (24/01/85). Aprobación de la lista positiva de aditivos para uso en la elaboración de salazones cárnicas o no.
- OUALI, A. (1990). Meat tenderization: possible causes and mechanisms. A review. J. Muscle Foods 1, 129-165.
- OUALI, A. (1992). Proteolytic and physicochemical mechanisms involved in meat texture development. Biochimie 74, 251-265.
- OUALI, A.; OBLED, A.; COTTIN, P.; MERDADI, N.; DUCASTAING, A. y VALIN, C. (1983). Comparative effects of *post mortem* storage and low-calcium requiring neutral proteinase on bovine and rabbit myofibrillar proteins. J. Sci. Food Agric. 34, 466-476.
- OUALI, A.; GARREL, N.; OBLED, C.; DEVAL, C.; VALIN, C. y PENNY, I.F. (1987). Comparative action of cathepsin D, B, H, L and of a new lysosomal cysteine proteinase on rabbit myofibrils. Meat Sci. 19, 83-100.
- PALMIA, F. (1982). Determinazione dell'attività dell'acqua ( $a_w$ ) di prosciutti crudi stagionati in funzione del contenuto di acqua e sale. Ind. Conserve 57, 69-72.

- PAROLARI, G. (1994). Taste quality of Italian raw ham in a free-choice profile study. *Food Qual. Pref.* 5 (1/2), 129-133.
- PAROLARI, G.; CHIZZOLINI, R.; BELLATI, M. y DAZZI, G. (1983). Modificazioni fisiche e chimiche delle proteine nella maturazione del prosciutto di Parma. II: Colore. *Ind. Conserve* 58, 147-149.
- PAROLARI, G.; GELLATI, M. y FRANCESCHINI, M. (1985). Un test di qualità per el prosciutto italiano. *Ind. Conserve* 60, 285-289.
- PAROLARI, G.; RIVALDI, P.; LEONELLI, C.; BELLATI, M. y BOVISS, N. (1988). Colore e consistenza del prosciutto crudo in rapporto alla materia prima e alla tecnica di stagionatura. *Ind. Conserve* 63, 45-49.
- PAROLARI, G.; VIRGILI, R. y SCHIVAZAPPA, C. (1994). Relationship between cathepsin B activity and compositional parameters in dry-cured hams of normal and defective texture. *Meat Sci.* 38, 117-122.
- PARREÑO, M.; CUSSÓ, R.; GIL, M. y SÁRRAGA, C. (1994). Development of cathepsin B, L y H activities and cystatin like activity during two different manufacturing processes for Spanish dry-cured ham. *Food Chem.* 49, 15-21.
- PATTERSON, R.L.S. (1968). 5 $\alpha$ -Androst-16-en-3-one compound responsible for taint in boar fat. *J. Sci. Food Agric.* 19, 31-38.
- PEDERSEN, B. (1994). Removing bitterness from protein hidrolysates. *Food Technol.* 10, 96-98.
- PENNY, I.F. (1984). Enzimología de la maduración (Capítulo 5). En "Avances de la ciencia de la carne", ed. Lawrie, R.A. Ed. Acribia S.A. Zaragoza. España. pp. 148-181.
- PENNY, I. F. y DRANSFIELD, E. (1979). Relationship between toughness and troponin-T in conditioned beef. *Meat Sci.* 3, 135-143.
- PENNY, I.F. y FERGUSON-PRYCE, R. (1979). Measurement of autolysis in beef muscle homogenates. *Meat Sci.* 3, 121-134.
- PERAL, I. y PÉREZ-VILLARREAL, B. (1999). Application of rheological analysis in dry cured ham during elaboration process. *Proc. New developments in guaranteeing the optimal sensory quality of meat*, eds. Toldrá, F. y Troy, D.J. Madrid. España.
- PEZZANI, G.; BARBUTI, I.S. y GHISI, M. (1988). Modificazione del tessuto adiposo durante la stagionatura del prosciutto. *Ind. Conserve* 63, 338-342.
- PHARMACIA BIOTECH (1986a). Fast Comassie staining. Development Technique. File nº 200.

- PHARMACIA BIOTECH (1986b). Separation Technique. File nº 110.
- PINEDA, J.M. y CARRASCOSA, A.V. (1993). Dinámica de la salazón en jamón serrano español de cerdo blanco. *Eurocarne* 13, 31-38.
- POMA, J.P. (1980). Etude de quelques facteurs influençant la vitesse de pénétration du sel. *Viandes et Produits Carnés* 1, 2-6.
- POMA, J.P. (1987). Prevention du poissage des jambons secs en cours de fabrication. *Viandes et Produits Carnés* 8, 109-111.
- PORZIO, M.A. y PEARSON, M.A. (1977). Improved resolution of myofibrillar proteins with sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *Biochimica et Biophysica Acta* 490, 35-43.
- RACZYNSKI, R.G.; SPOTTI, E. y TAGLIAVINI, A. (1978). Indagini sul prosciutto tipico di Parma: Influenza della fase di salagione sull'evoluzione dei parametri chimico-fisici e della popolazione batterica. *Nota II. Ind. Conserve* 53, 11-16.
- RICO, E.; TOLDRÁ, F. y FLORES, J. (1990). Activity of cathepsin D as affected by chemical and physical dry-curing parameters. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 191, 20-23.
- RIFKIND, J.M. (1973). Hemoglobin and myoglobin. En "Inorganic biochemistry", vol. 2, ed. Eichhorn, G. Ed. Elsevier Scientific. Amsterdam. Holand.
- RIVETT, A.J. (1989). High molecular mass intracellular proteases. *Biochem. J.* 263, 625-633.
- ROBBINS, F.M.; WALKER, J.E.; COHEN, S.E. y CHATTERJEE, S. (1979). Action of proteolytic enzymes on bovine myofibrils. *J. Food Sci.* 44, 1672-1677.
- RODRÍGUEZ-NÚÑEZ, E.; ARISTOY, M.C. y TOLDRÁ, F. (1995). Peptide generation in the processing of dry-cured ham. *Food Chem.* 53, 187-190.
- ROMERO-HERRERA, A.E.; LEHMANN, H.; JOYSEY, K.A.; FRIDAY, A.E. (1978). On the evolution of myoglobin. *Phil. Trans. Royal Soc. London Series B*, 283, 61.
- ROSELL, C.M. y TOLDRÁ, F. (1996). Effects of curing agents on m-calpain activity through the curing process. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 203, 320-325.
- ROUSSET, S.; SCHLICH, P. y TOURAILLE, C. (1990). Traitement statistique de profil sensoriel des jambons secs par analyse procusteenne generalise. *Viandes et Produits Carnés* 11, 317-318.

- ROUSSET-AKRIM, S. (1996). Establishing scientific bases for control and improvement of sensory quality of dry-cured hams in Southern european countries: INRA Report. Project AIR-CT93-1757, European Commission. Brussels. Belgium.
- ROVIRA, J.; ORDÓÑEZ, M. y JAIME, I. (1996). Importancia de la calidad sensorial y la presentación en la actitud de los consumidores frente al jamón serrano. Eurocarne 45, 39-44.
- RUIZ, J. (1996). Estudio de parámetros sensoriales y fisico-químicos implicados en la calidad del jamón ibérico. Tesis Doctoral. Universidad de Extremadura.
- SAKATA, R. y NAGATA, Y. (1986). Extractability of native nitroso heme pigments from cured meat. J. Zootech. Sci. 57, 103-108.
- SAKATA, R. y NAGATA, Y. (1992). Heme pigment content in meat as affected by the addition of curing agents. Meat Sci. 32, 343-350.
- SALM, C.P.; FORREST, J.C.; ABERLE, E.D.; MILLS, E.W.; SNYDER, A.C. y JUDGE, M.D. (1983). Bovine muscle shorting and protein degradation after electrical stimulation, excision and chilling. Meat Sci. 8, 163-183.
- SAMEJIMA, K. y WOLFE, F.H. (1976). Degradation of myofibrillar protein components during *post mortem* aging of chicken muscle. J. Food Sci. 41, 250.
- SÁNCHEZ-MOLINERO, F. y ARNAU, J. (1998). The effect of inoculation of a starter culture on sensory characteristics of dry-cured hams using two different resting technologies. Proc. 44<sup>th</sup> ICoMST. Barcelona. España. pp. 1010-1011.
- SÁNCHEZ-MOLINERO, F.; GUERRERO, L.; GUARDIA, M.D. y ARNAU, J. (2000). Efecto de la disminución del contenido de oxígeno de la atmósfera de secado en las características sensoriales del jamón curado. II Simposio internacional del jamón curado. Ed. I.R.T.A y Eurocarne. Barcelona. España. pp. 102-103.
- SÁRRAGA, C. (1992). Meat proteinases and their relation with curing. En "ECCAMST course: new technologies for meat and meat products", eds. Smulders, F.J.M.; Toldrá, F.; Flores, J. y Prieto, M. Audet Tijdschriften bv. Nijmegen. The Netherlands. pp. 233-246.
- SÁRRAGA, C. (1998). Inhibición fisiológica de la proteólisis: las cistatinas. Eurocarne 64, 65-70.
- SÁRRAGA, C.; GIL, M.; ARNAU, J. y MONFORT, J.M. (1989). Effect of curing salt and phosphate on the activity of porcine muscle proteases. Meat Sci. 25, 241-249.



- SÁRRAGA, C.; GIL, M. y GARCÍA-REGUEIRO, J.A. (1993). Comparison of calpain and cathepsin (B, L and D) activities during dry-cured ham processing from heavy and light Large White pigs. *J. Sci. Food Agric.* 62, 71-75.
- SAVAGE, A.W.J.; WARRISS, P.D. y JOLLEY P.D. (1990). The amount and composition of the proteins in drip from store pig meat. *Meat Sci.* 27, 289-303.
- SAYRE, R.N.; BRISKEY, E.J. y HOEKSTRA, W.G. (1963). Comparison of muscle characteristics and *post mortem* glycolysis in three breeds of swine. *J. Anim. Sci.* 22, 1012-1020.
- SCHWARTZ, W.N. y BIRD, J.W.C. (1977). Degradation of myofibrillar proteins by cathepsins B and D. *Biochem.* 191, 487-491.
- SHAHIDI, F. (1989). Flavor of cooked meats. En "Flavor chemistry: trends and developments", eds. Teranishi, R.; Buttery, R.G. y Shahidi, F. p. 188.
- SILLA, M.H.; INNERARITY, A. y FLORES, J. (1985). Características de jamones con cristales de tirosina. *Rev. Agroquim. Tecnol. Aliment.* 25, 95-103.
- SIMPSON, S.P.; WEEB, A.J. y DICK, S. (1987). Evaluation of Large White and Duroc boards as terminal sires under two different feeding regimes. *Anim. Prod.* 45, 111-116.
- SMITH, W.C. y WILSON, L.A. (1978). A note of some factors influencing muscle pH values in commercial pig carcasses. *Anim. Prod.* 26, 229-232.
- SMITH, W.C.; PEARSON, G. y GARRICK, D.J. (1988). Evaluation of the Duroc in comparison with the Landrace and Large White as a terminal sire of crossbred pigs slaughtered at 85 kg live-weight. *N.Z.J. Agric. Research* 31, 421-430.
- SMULDERS, F.J.M.; VAN LAACK, R.L.J.M. y EIKELENBOOM, G. (1991). Muscle and meat quality: Biological basis, processing, preparation. En "The European meat industry in the 1990's", ed. Smulders, F.J.M. Ed. ECCEAMST, Audet Tijdschriften bv. Nijmegen. The Netherlands. pp. 121-165.
- SMULDERS, F.J.M.; BARNIER, V.M.H.; GEESINK, G.H. y VAN LAACK, R.L.J.M. (1995). The muscle biological background of meat tenderness. En "Composition of meat in relation to processing, nutritional and sensory quality", eds. Lundström, K.; Hansson, I. y Wiklund, E. Ed. ECCEAMST. Holand. pp. 103-117.
- S.P.S.S. Program for Windows 2000.



- SWIFT, C.E. y BERMAN, M.D. (1959). Factors affecting water retention of beef. Food Technol. 13, 365.
- TAKAHASHI, K. (1996). Structural weakening of skeletal muscle tissue during *post mortem* ageing of meat: the non-enzimatic mechanism of meat tenderization. Meat Sci. 43, S67-S80.
- TAPIADOR, J. (2000). Gestión de la trazabilidad en el sector cárnico. II Simposio internacional del jamón curado. Ed. I.R.T.A. y Eurocarne. Barcelona. España. pp. 43-52.
- TAYLOR, R.G.; GEESINK, G.H.; THOMPSON, V.F.; KOOHMARAIE, M. y GOLL, D.E. (1995). Is Z-disk degradation responsible for *post mortem* tenderization?. J. Anim. Sci. 73, 1351-1367.
- TIBAU, J. (1996). Genes y carne porcina. Eurocarne 52, 37-40.
- TIMÓN, M.L.; BARNADIARAN, M.; y VENTANAS, J. (1995). Caracterización de la calidad del jamón ibérico: I. Productos generados a partir de la proteolisis. Eurocarne 35, 65-70.
- TÖHT, L. (1983). Nitrite reactions during the curing of meat products. Fleischwirtsch. 63 (2), 208-211.
- TOLDRÁ, F. (1992). The enzymology of dry-curing of meat products. En "New technologies for meat and meat products", eds. Smulders, F.J.M.; Toldrá, F.; Flores, J. y Prieto, M. Audet Tijdschriften bv. Nijmegen. The Netherlands. pp. 209-231.
- TOLDRÁ, F. (1998). Desarrollo de las características de textura y flavor: contribución enzimática. Simposio especial 44<sup>th</sup> ICoMST. Ed. I.R.T.A y Eurocarne. Barcelona. España. pp. 42-54.
- TOLDRÁ, F. y ETHERINGTON, D.J. (1988). Examination of cathepsin B, D, H and L activities in dry-cured hams. Meat Sci. 23, 1-7.
- TOLDRÁ, F.; FLORES, J. y VOYLE, C.A. (1990). Study of the white film developed on the cut surface of vacuum-packed dry-cured ham slices. J. Food Sci. 55, 1189-1191.
- TOLDRÁ, F.; ARISTOY, M.C.; PART, C.; CERVERÓ, C.; RICO, E.; MOTILVA, M.J. y FLORES, J. (1992a). Muscle and adipose tissue aminopeptidase activities in raw and dry-cured ham. J. Food Sci. 57, 816-818, 833.
- TOLDRÁ, F.; MILLARES, M.C. y FLORES, J. (1992b). Protein extractability in dry-cured ham. Food Chem. 44, 391-394.
- TOLDRÁ, F.; RICO, E. y FLORES, J. (1993). Cathepsin B, D, H y L activity in the processing of dry-cured ham. J. Sci. Food Agric. 62, 157-161

- TROY, D.J. (1999). The identification, isolation and measurement of proteases and protein fragments with relevance to meat tenderness. Proc. New developments in guaranteeing the optimal sensory quality of meat, eds. Toldrá, F. y Troy, D.J. Madrid. España. pp. 9-24.
- TURK, B. y BODE, W. (1993). Lysosomal cysteine proteinases and their inhibitors cystatins. En "Innovations in proteases and their inhibitors", ed. Aviles, F.S. Ed. Walter de Gruyter. Berlin. New York. pp. 161-178.
- TURK, B.; DOLENC, I.; ZEROVNIK, E.; TURK, D.; GUBENSEK, F. y TURK, V. (1994). Human cathepsin B is a metastable enzyme stabilized by specific ionic interactions associated with the active site. Biochem. 33, 14800-14806.
- TURK, B.; BIETH, J.G.; BJÖRK, I.; DOLENC, I.; TURK, D.; CIMERMAN, N.; KOS, J.; COLLO, A.; STOKA, V. y TURK, V. (1995). Regulation of the activity of lysosomal cysteine proteinases by pH-induced inactivation and/or endogenous protein inhibitors, cystatins. Biol. Chem. Hoppe-Seyler 376, 225-230.
- UNE 87-001-94 (1997). Análisis sensorial. Vocabulario. En "Análisis Sensorial", tomo 1-Alimentación. AENOR. pp. 19-54.
- UNE 87-003-95 (1997). Análisis sensorial. Metodología. Método de investigación de la sensibilidad gustativa. En "Análisis sensorial", tomo 1-Alimentación. AENOR. pp. 189-196.
- UNE 87-004-79 (1997). Análisis sensorial. Guía para la instalación de una sala de cata. En "Análisis sensorial", tomo 1-Alimentación. AENOR. pp. 57-62.
- UNE 87-024-1-95 (1997). Análisis sensorial. Guía general para la selección, entrenamiento y control de jueces. Parte 1: Catadores. En "Análisis sensorial", tomo 1-Alimentación. AENOR. pp. 216-240.
- UNE 87-025-96 (1997). Análisis sensorial. Metodología. Perfil de textura. En "Análisis sensorial", tomo 1-Alimentación. AENOR. pp. 167-186.
- UYTTERHAEGEN, L.; CLAEYS, E. y DEMEYER, D. (1992). The effect of electrical stimulation on beef tenderness protease activity and myofibrillar fragmentation. Biochimie 74, 275-281.
- UYTTERHAEGEN, L.; CLAEYS, E. y DEMEYER, D. (1994). Effects of exogenous protease on beef tenderness development and myofibrillar degradation and solubility. J. Anim. Sci. 72, 1209-1223.
- VALDÉS, Z.; MANEY, G. y RAMOS, M. (1982). Estudio sobre la elaboración en Cuba del jamón estilo Parma. I. Primeras experiencias sobre el ajuste de los parámetros de salazón. Proc. 28<sup>th</sup> Eur. Meet. Meat Res. Workers, 234.

- VALERO, A.; GISPERT, M. y GARCÍA REGUEIRO, J.A. (1998). Determination of intramuscular fat in pig meat from different muscles and cooked ham by near infrared transmittance. Proc. 44<sup>th</sup> ICoMST. Barcelona. España. pp. 610-611.
- VALIN, C. y OUALI, A. (1992). Proteolytic muscle enzymes and *post mortem* meat tenderisation. En "New technologies for meat and meat proteins", eds. Smulders, F.J.M.; Toldrá, F.; Flores, J y Prieto, M. Ed. ECCEAMST, Audet Tijdschriften bv. Nijmegen. The Netherlands. pp. 163-179.
- VENTANAS, J. y CÓRDOBA, J.J. (1992). Jamón curado de cerdo ibérico: elaboración y condiciones de conservación y consumo. En "Manual práctico de la carne". Ed. Martín & Macías. Madrid. España. pp. 559-585.
- VENTANAS, J.; RUIZ, J. y CAVA, R. (1998). Productos de calidad del cerdo ibérico. Simposio especial 44<sup>th</sup> ICoMST. Ed. I.R.T.A. y Eurocarne. Barcelona. España. pp. 128-144.
- VERPLAETSE, A. (1994). Influence of raw meat properties and processing technology on aroma quality of raw fermented meat products. Proc. 40<sup>th</sup> ICoMST. La Hague. The Netherlands. pp. 45-65.
- VIRGILI, R.; PAROLARI, G.; SCHIVAZAPPA, C.; SORESI BORDINI, C. y BORRI, M. (1995). Sensory and texture quality of dry-cured ham as affected by endogenous cathepsin B activity and muscle composition. J. Food Sci. 60, 1183-1186.
- VIRGILI, R.; PAROLARI, G.; SORESI BORDINI, C. y SCHIVAZAPPA, C. (1997). Sensory and analytical investigations into six types of european hams: parma, serrano, bayonne, italian country-style, iberian y corsican. Ind. Conserve 72, 134-143.
- VIRGILI, R.; PORTA, C. y SCHIVAZAPPA, C. (1998a). Effect of raw material on the end-product characteristics. Simposio especial 44<sup>th</sup> ICoMST. Ed. I.R.T.A. y Eurocarne. Barcelona. España. pp. 26-37.
- VIRGILI, R.; SCHIVAZAPPA, C.; PAROLARI, C.; SORESI BORDINI, C. y DEGNI, M. (1998b). Proteases in fresh pork muscle and their influence on bitter taste formation in dry-cured ham. J. Food Biochem. 22, 53-63.
- WALSTRA, P.; JANSEN, A.A.M. y MALEMAN, G. (1977). Proc. 3<sup>rd</sup> Int. Conf. Production Diseases in Farm Animals. Wageningen. Pudoc Wageningen. Holland. pp. 193-199.
- WARDLAW, F.B.; SKELLEY, G.C.; JOHNSON, M.G. y ACTON, J.C. (1973). Changes in meat components during fermentation heat processing and drying of a summer sausage. J. Food Sci. 38, 1228-1231.

- WATTS, B.M. (1954). Oxidative rancidity and discoloration in meat. *Adv. Food Res.* 5, 1.
- WEBER, K. y OSBORN, M. (1969). The reliability of molecular weight determination by sodium dodecyl sulphate-polyacrilamide gel electrophoresis. *J. Biol. Chem.* 244, 4406-4412.
- WHIPPLE, G. y KOOHMARAIE, M. (1992). Effects of lamb age, muscle type, and 24 hour activity on endogenous proteinases on *post mortem* proteolysis. *J. Anim. Sci.* 70, 798-804.
- WOOD, J.D.; JONES, R.C.D.; FRANCOMBE, M.A. y WHELEHAN, O.P. (1986). The effects of fat thickness and sex on pig meat quality with special reference to the problems associated with overleanness. 2. Laboratory and trained taste panel results. *Anim. Prod.* 43, 535-544.
- WOOD, J.D.; EDWARDS, S.A. y BICHARD, M. (1988). Influence of the Duroc breed on pigmeat quality. *Proc. 34<sup>th</sup> ICoMST.* pp. 571-572.
- WOOD, J.D.; WARRISS, P.D. y ENSER, M.B. (1992). Effects of production factors on meat quality in pigs. En "The chemistry of muscle-based foods". Eds. Ledward, D.A.; Johnston, D.E. y Knight, M.K. The Royal Society of Chemistry. Cambridge. England. p. 226.
- YAMAGUCHI, S. (1991). Fundamental properties of umami taste. *J. Agric. Chem. Society of Japan* 65 (5), 903-906.
- YATES, L.D.; DUTSON, T.R.; CALDWELL, J. y CARPENTER, Z.L. (1983). Effect of temperature and pH on the *post mortem* degradation of myofibrillar proteins. *Meat Sci.* 9, 157-159.
- ZERT, P. y POLACK, D. (1982). Le qualité de la viande de porc. ITP. Serie V 82.